



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO**

**FACULTAD DE INGENIERÍA**

**CENTRO INTERAMERICANO DE RECURSOS DEL AGUA**

**INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES NUCLEARES**

**RESPUESTA DE UN CONSORCIO MICROBIANO FRENTE A  
ZEOLITAS INTERCAMBIADAS CON PLATA EN AGUA CON  
MANGANESO- HIERRO**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**DOCTOR EN CIENCIAS DEL AGUA**

**P R E S E N T A**

**DIANA CONTRERAS ARZATE**

**DIRECTORES**

**DRA. MARINA ISLAS ESPINOZA**

**DRA. MARÍA TERESA OLGUÍN GUTIÉRREZ**

**DR. CHEIKH FALL**

**TOLUCA, ESTADO DE MÉXICO**

**OCTUBRE, 2017**

THE NITROGEN IN OUR DNA,  
THE CALCIUM IN OUR TEETH,  
THE IRON IN OUR BLOOD,  
THE CARBON IN OUR APPLE PIES.  
WERE MADE IN THE INTERIORS OF COLLAPSING STARS.  
WE ARE MADE OF STARSTUFF.

— CARL SAGAN



*Facultad de Ingeniería*  
Ciudad Universitaria, Toluca, México a 9 de Octubre de 2017

**M. en C. Amb. Diana Contreras Arzate**  
**P r e s e n t e**

A continuación transcribo el tema y capitulado aprobado por esta institución para el desarrollo de su tesis, dirigida por la **Dra. Marina Islas Espinoza**, del Doctorado en Ciencias del Agua, siendo de la siguiente manera:

**“RESPUESTA DE UN CONSORCIO MICROBIANO FRENTE A ZEOLITAS  
INTERCAMBIADAS CON PLATA EN AGUA CON MANGANESO- HIERRO”**

**Resumen**  
**Abstract**  
**Introducción**  
**Marco Teórico**  
**Justificación, hipótesis y objetivos**  
**Metodología**  
**Resultados y Discusión**  
**Conclusiones y Recomendaciones**  
**Referencias**  
**Anexos**

Asimismo, para la aprobación de la tesis y demás trámites deberá sujetarse al reglamento respectivo de esta institución.

**Atentamente**  
**Patria, Ciencia y Trabajo**



**FACULTAD DE INGENIERÍA**  
**U. A. E. M.**

**Dra. María Dolores Durán García**  
**Directora**



El presente trabajo de investigación se realizó dentro del programa de Doctorado en Ciencias del Agua, de la Universidad Autónoma del Estado de México (Facultad de Ingeniería, Centro Interamericano de Recursos del Agua) en colaboración con el Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ).

La colaboración para la fase experimental y de análisis de la presente investigación se realizó en las instalaciones del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares en los Departamentos de Química y Biología, Proyecto CB 505 Etapa III "Parámetros que influyen sobre la separación de especies nucleares, inertes o microbiológicas consideradas contaminantes de medios acuosos por compuestos de naturaleza variada y mecanismos asociados" y Proyecto SEP-CONACyT 254665 "Comportamiento de intercambiadores iónicos y adsorbentes de origen natural frente a especies nucleares, químicas o microbiológicas consideradas contaminantes del agua", bajo la responsabilidad de la Dra. María Teresa Olguín Gutiérrez.

Asimismo, se recibió apoyo del Centro Interamericano de Recursos del Agua (CIRA) por parte de la Dra. Marina Islas Espinoza y el Dr. Cheikh Fall.

## ***AGRADECIMIENTOS***

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)** a través del proyecto 254665, para el apoyo financiero y bajo la responsabilidad de la Dra. María Teresa Olguín Gutiérrez del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares.

**Diana Contreras Arzate**, con número de becario **257304**, agradece el apoyo al **CONACyT**, por la beca proporcionada para realizar estudios de Doctorado.

Al **Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ)**. Gerencia de Ciencias Básicas: Departamento de Química y Biología. Por el apoyo y facilidades para realizar la presente investigación.

Al **Dr. Régulo López Callejas** y al **Dr. Rosendo Peña Eguiluz** del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, por su apoyo para la obtención de las muestras zeolíticas modificadas con nanopartículas de plata generadas con plasma.

Al personal del **Laboratorio Nacional de Forense Nuclear (LANAFONU)** del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, por el apoyo para los análisis químicos de las muestras de agua.

A la **Dra. Marina Islas Espinoza**. Agradezco su confianza, apoyo y objetividad para el desarrollo de la presente investigación.

A la **Dra. María Teresa Olguín Gutiérrez**; quien me ha brindado su incondicional apoyo, conocimientos, confianza y objetividad para llevar a cabo esta investigación y que ha contribuido extraordinariamente a mi crecimiento personal y académico.

Al **Dr. Cheikh Fall**; por el apoyo brindado y sus objetivas observaciones para enriquecer este proyecto de investigación.

Agradezco a la **Dra. Ivonne Linares Hernández** y a la **Dra. Edith Erielia Gutiérrez Segura** por el apoyo brindado y sus observaciones que enriquecieron esta investigación.

Mi reconocimiento y especial agradecimiento por su disposición, compromiso y atención a:

**M. en C. Gloria Irene Carmona Chit**

**Ing. Rafael Basurto Sánchez**

**Dr. Jorge Serment Guerrero**

## ***AGRADECIMIENTO DISTINTIVO***

Al **M. en C. David Alcántara Díaz**, por su asesoría, apoyo, disposición y paciencia para desarrollar el presente trabajo de investigación en el área de microbiología, no tengo más que palabras de respeto y aprecio para usted.

Yo prefiero pensar que somos el  
producto efímero de una larga evolución al azar,  
Por que de no ser así,  
¿Con qué propósito alguien se habría tomado la molestia de crear a la especie humana?

A mis Papás.

Alicia y Rubén, los amo muchísimo, porque siempre han estado conmigo para apoyar mis decisiones y porque hoy como siempre están para compartir uno más de nuestros logros, pero principalmente por que aun no encuentro la manera de agradecerles una vida de esfuerzo y sacrificio para que yo sea la persona que soy hoy.

Alex, Balder y Liam.

Gracias a ustedes, que son el amor de mi vida, soy capaz de hacer todo lo que me propongo. Gracias por su apoyo incondicional siempre, los amo mis estrellas.

Rubén, Edgar y Monse, gracias por estar conmigo siempre, los amo.

Karla, Carmen y David. Gracias por su apoyo.

Dony, Danas, Abbath, Razi y Loren los amo mucho.

Irma Patiño Vieyra. Gracias.

## CONTENIDO

<b>AGRADECIMIENTOS.....</b>	<b>v</b>
<b>INDICE DE TABLAS.....</b>	<b>xii</b>
<b>INDICE DE FIGURAS.....</b>	<b>xiv</b>
<b>ACRÓNIMOS.....</b>	<b>xviii</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>1</b>
<b>1 ANTECEDENTES .....</b>	<b>6</b>
<b>1.1 Agua.....</b>	<b>6</b>
<b>1.2 Desinfección del agua.....</b>	<b>6</b>
<b>1.3 Zeolitas y aplicaciones .....</b>	<b>9</b>
<b>1.4 Ion plata y nanopartículas.....</b>	<b>10</b>
<b>1.5 Modelos cinéticos de desorción de Plata.....</b>	<b>13</b>
1.5.1 Ley de difusión parabólica (Higuchi) .....	14
1.5.2 Modelo de Korsmeyer- Peppas .....	14
<b>1.6 Métodos de síntesis de nanopartículas de plata .....</b>	<b>15</b>
1.6.1 Métodos Químicos .....	16
1.6.2 Métodos Físicos.....	16
1.6.3 Métodos Biológicos .....	16
<b>1.7 Síntesis por irradiación con plasma.....</b>	<b>18</b>
<b>1.8 Síntesis con extracto de toronja .....</b>	<b>18</b>
<b>1.9 Hierro y Manganese.....</b>	<b>19</b>
<b>1.10 Microorganismos .....</b>	<b>20</b>
1.10.1 <i>Escherichia coli</i> ( <i>E. coli</i> ).....	23
1.10.2 <i>Enterococcus faecalis</i> ( <i>E. faecalis</i> ).....	23
1.10.3 <i>Candida albicans</i> ( <i>C. albicans</i> ) .....	23
<b>2 JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>25</b>
<b>3 HIPÓTESIS .....</b>	<b>26</b>
<b>4 OBJETIVOS.....</b>	<b>27</b>
<b>4.1 Objetivo general.....</b>	<b>27</b>
<b>4.2 Objetivos específicos .....</b>	<b>27</b>
<b>5 METODOLOGÍA .....</b>	<b>28</b>
<b>5.1 Diagrama del desarrollo experimental.....</b>	<b>28</b>
<b>5.2 Acondicionamiento del material zeolítico .....</b>	<b>28</b>
5.2.1 Acondicionamiento con NaCl.....	28
5.2.2 Acondicionamiento con Ag iónica.....	29
<b>5.3 Síntesis de nanopartículas de plata.....</b>	<b>29</b>
5.3.1 Método de reducción de plata mediante extracto de toronja.....	29
5.3.2 Método de reducción de plata mediante irradiación con plasma .....	29
<b>5.4 Caracterización del material zeolítico.....</b>	<b>31</b>

5.4.1 Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) y Espectroscopia de Energía Dispersiva de rayos-X (EDS).....	31
5.4.2 Microscopia Electrónica de Transmisión (MET).....	31
5.4.3 Difracción de rayos-X.....	31
5.4.4 Espectroscopia de fotoelectrones inducidos por rayos-X.....	31
<b>5.5 Muestreo y caracterización de agua de pozo .....</b>	<b>32</b>
<b>5.6 Ensayos microbiológicos.....</b>	<b>32</b>
5.6.1 Precultivo y cuantificación de células microbianas .....	33
5.6.2 Cinéticas de desinfección del agua por zeolita natural modificada con iones plata como agente microbicida.....	34
5.6.3 Plata liberada al medio acuoso.....	35
<b>6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>36</b>
<b>6.1 Caracterización por Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) y Espectroscopia de Energía Dispersiva de rayos-X (EDS) .....</b>	<b>36</b>
6.1.1 Material Zeolítico sódico y con plata iónica.....	36
6.1.2 Material zeolítico con plata por extracto de toronja.....	38
6.1.3 Material zeolítico con plata reducida por irradiación con plasma .....	38
<b>6.2 Caracterización por Microscopía Electrónica de Transmisión (MET).....</b>	<b>39</b>
6.2.1 Material zeolítico natural .....	39
6.2.2 Material zeolítico sódico .....	40
6.2.3 Material zeolítico con plata iónica.....	41
6.2.4 Material zeolítico con plata reducida por extracto de toronja .....	41
6.2.5 Material zeolítico con plata reducida por irradiación con plasma .....	43
<b>6.3 Difracción de Rayos-X (DRX) .....</b>	<b>43</b>
6.3.1 Material zeolítico natural y sódico .....	43
6.3.2. Material zeolítico con plata (ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP).....	44
<b>6.4 Espectroscopia de fotoelectrones inducidos por rayos-X (XPS).....</b>	<b>46</b>
6.4.1 Zeolita natural (ZN).....	46
6.4.2 Zeolita sódica (ZNa).....	49
6.4.3 Zeolita con plata iónica (ZAgiónica) .....	52
6.4.4 Zeolita con plata reducida por extracto de toronja (ZAgnpT).....	55
6.4.5 Zeolita con plata reducida por irradiación con plasma (ZAgnpP).....	58
<b>6.5 Constantes cinéticas de desinfección para los microorganismos de manera individual en agua desionizada y desorción de Ag<sup>+</sup> .....</b>	<b>62</b>
6.5.1 Efecto del material zeolítico sódico sobre <i>E. coli</i> .....	63
6.5.2 Cinéticas de desinfección para <i>E. coli</i> en agua desionizada y desorción de Ag <sup>+</sup> de los materiales zeolíticos .....	64
6.5.2.1 Cinéticas de desinfección .....	64
6.5.2.2 Cinéticas de desorción.....	65
6.5.3 Efecto del material zeolítico sódico sobre <i>E. faecalis</i> .....	67
6.5.4 Cinéticas de desinfección para <i>E. faecalis</i> en agua desionizada y desorción de Ag <sup>+</sup> de los materiales zeolíticos.....	68
6.5.4.1 Cinéticas de desinfección .....	68
6.5.4.2 Cinéticas de desorción.....	70



6.5.5 Efecto del material zeolítico sódico sobre <i>C. albicans</i> .....	72
6.5.6 Cinéticas de desinfección para <i>C. albicans</i> en agua desionizada y desorción de Ag <sup>+</sup> de los materiales zeolíticos.....	73
6.5.6.1 Cinéticas de desinfección.....	73
6.5.6.2 Cinéticas de desorción.....	75
<b>6.6 Constantes cinéticas de desinfección para el consorcio <i>E. coli</i> - <i>E. faecalis</i> - <i>C. albicans</i> en agua desionizada y desorción de Ag<sup>+</sup>.....</b>	<b>77</b>
6.6.1 Efecto del material zeolítico sódico sobre el consorcio.....	77
6.6.2 Cinéticas de desinfección para el consorcio en agua desionizada y desorción de la Ag <sup>+</sup> de los materiales zeolíticos.....	78
6.6.2.1 Cinéticas de desinfección.....	78
6.6.2.2 Cinéticas de desorción.....	85
<b>6.7 Constantes cinéticas de desinfección para el consorcio <i>E. coli</i> - <i>E. faecalis</i> - <i>C. albicans</i> en agua desionizada en presencia de Fe<sup>3+</sup> y Mn<sup>2+</sup> y desorción de Ag<sup>+</sup>.....</b>	<b>89</b>
6.7.1 Efecto del material zeolítico sódico sobre el consorcio en presencia de Fe <sup>3+</sup> y Mn <sup>2+</sup> .....	89
6.7.2 Cinéticas de desinfección para el consorcio en agua desionizada en presencia de Fe <sup>3+</sup> y Mn <sup>2+</sup> y desorción de la Ag <sup>+</sup> de los materiales zeolíticos.....	90
6.7.2.1 Cinéticas de desinfección.....	90
6.7.2.2 Cinéticas de desorción.....	98
<b>6.8 Caracterización del agua de pozo San Andrés Cuexcontitlán de Hidalgo.....</b>	<b>105</b>
6.8.1 Sitio de muestreo.....	105
6.8.2 Caracterización microbiológica.....	105
6.8.3 Caracterización fisicoquímica.....	106
<b>6.9 Constantes cinéticas de desinfección para el consorcio <i>E. coli</i> - <i>E. faecalis</i> - <i>C. albicans</i> en agua de pozo y desorción de Ag<sup>+</sup>.....</b>	<b>107</b>
6.9.1 Efecto del material zeolítico sódico sobre el consorcio en agua de pozo.....	108
6.9.2 Cinéticas de desinfección para el consorcio en agua de pozo y desorción de la Ag <sup>+</sup> de los materiales zeolíticos.....	109
6.9.2.1 Cinéticas de desinfección.....	109
6.9.2.2 Cinéticas de desorción.....	114
<b>6.10 Constantes cinéticas de desinfección para el consorcio <i>E. coli</i> - <i>E. faecalis</i> - <i>C. albicans</i> en agua de pozo con Fe<sup>3+</sup> y Mn<sup>2+</sup> adicionado y desorción de Ag<sup>+</sup>.....</b>	<b>120</b>
6.10.1 Efecto del material zeolítico sódico sobre el consorcio en agua de pozo con Fe <sup>3+</sup> y Mn <sup>2+</sup> adicionado.....	120
6.10.2 Cinéticas de desinfección para el consorcio en agua de pozo con Fe <sup>3+</sup> y Mn <sup>2+</sup> adicionado y desorción de la Ag <sup>+</sup> de los materiales zeolíticos.....	121
6.10.2.1 Cinéticas de desinfección.....	121
6.10.2.2 Cinéticas de desorción.....	127
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>133</b>
<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>138</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>139</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>149</b>

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Características de un desinfectante ideal de acuerdo con trabajos reportados en la literatura ..	7
<b>Tabla 2.</b> Grupos funcionales de unión involucrados en la biosorción de plata.....	11
<b>Tabla 3.</b> Métodos comúnmente empleados en la síntesis verde de nanopartículas de plata. ....	17
<b>Tabla 4.</b> Código de identificación del material zeolítico acondicionado.....	30
<b>Tabla 5.</b> Métodos de preservación de muestras para la determinación de parámetros fisicoquímicos..	33
<b>Tabla 6.</b> Valores de la energía de enlace (Be en eV) de los picos que componen al espectro XPS del material zeolítico natural (ZNa). ....	49
<b>Tabla 7.</b> Valores de energía de enlace (Be en eV) de los picos que componen al espectro XPS del material zeolítico sódico (ZNa). ....	52
<b>Tabla 8.</b> Valores de energía de enlace (Be en eV) de los picos que componen al espectro XPS del material zeolítico con plata iónica (ZAgiónica). ....	55
<b>Tabla 9.</b> Valores de energía de enlace (Be en eV) de los picos que componen al espectro XPS del material zeolítico con plata reducida por extracto de toronja (ZAgnpT). ....	58
<b>Tabla 10.</b> Valores de energía de enlace (Be en eV) de los picos que componen al espectro XPS del material zeolítico con plata reducida por irradiación con plasma (ZAgnpP). ....	61
<b>Tabla 11.</b> Parámetros del proceso de desinfección para <i>E. coli</i> en agua desionizada frente a los materiales zeolíticos ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP. ....	65
<b>Tabla 12.</b> Parámetros del proceso de desinfección para <i>E. faecalis</i> en agua desionizada frente a los materiales zeolíticos ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP. ....	69
<b>Tabla 13.</b> Parámetros del proceso de desinfección para <i>C. albicans</i> en agua desionizada frente a los materiales zeolíticos ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP. ....	74
<b>Tabla 14.</b> Parámetros del proceso de desinfección para el consorcio de microorganismos en agua desionizada frente a los materiales zeolíticos ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP. ....	79
<b>Tabla 15.</b> Concentración de $\text{Ag}^+$ desorbida por los materiales zeolíticos ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP en agua desionizada, el consorcio microbiano como sistema de prueba.....	86
<b>Tabla 16.</b> Parámetros del proceso de desinfección para el consorcio en agua desionizada con $\text{Fe}^{3+}$ y $\text{Mn}^{2+}$ frente a los materiales zeolíticos ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP.....	96
<b>Tabla 17.</b> Concentración de $\text{Na}^+$ y $\text{Ag}^+$ ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) desorbidos y remoción de $\text{Fe}^{3+}$ y $\text{Mn}^{2+}$ ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) por los materiales zeolíticos ZNa, ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP en agua desionizada con $\text{Mn}^{2+}$ y $\text{Fe}^{3+}$ , el consorcio como microorganismos de prueba.....	99
<b>Tabla 18.</b> Parámetros fisicoquímicos determinados para agua de pozo y los límites máximos permisibles por la NOM-127-SSA1-1994 y NOM-041-SSA1-1993b.....	107
<b>Tabla 19.</b> Parámetros del proceso de desinfección para el consorcio de microorganismos en agua de pozo frente a los materiales zeolíticos ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP.....	112

<b>Tabla 20.</b> Concentración de $\text{Na}^+$ y $\text{Ag}^+$ ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) desorbidos y remoción de Fe y Mn ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) por los materiales zeolíticos ZNa, ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP en agua de pozo, el consorcio como microorganismos de prueba.....	117
<b>Tabla 21.</b> Parámetros del proceso de desinfección para el consorcio de microorganismos en agua de pozo con $\text{Fe}^{3+}$ y $\text{Mn}^{2+}$ adicionado frente a los materiales zeolíticos ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP .....	122
<b>Tabla 22.</b> Concentración de $\text{Na}^+$ y $\text{Ag}^+$ ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) desorbidos y remoción de $\text{Fe}^{3+}$ y $\text{Mn}^{2+}$ ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) por los materiales zeolíticos ZNa, ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP en agua de pozo con $\text{Fe}^{3+}$ y $\text{Mn}^{2+}$ adicionados, el consorcio como microorganismos de prueba.....	129

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Intercambio iónico de iones plata por sodio en los canales zeolíticos.....	9
<b>Figura 2.</b> Nanopartículas de plata en pared celular bacteriana.....	12
<b>Figura 3.</b> Especies reactivas de oxígeno intracelulares en levaduras. En rojo especies involucradas en la apoptosis celular.....	13
<b>Figura 4.</b> Estructura de la pared celular de <i>Candida albicans</i> .....	22
<b>Figura 5.</b> Pared celular bacteriana a) Gram negativa, b) Gram positiva.....	22
<b>Figura 6.</b> Diagrama del desarrollo experimental.....	28
<b>Figura 7.</b> Reactor de placas paralelas de barrera dieléctrica.....	30
<b>Figura 8.</b> Imágenes de MEB de ZN (a), ZNa (b) y ZAgiónica (c).....	36
<b>Figura 9.</b> Imágenes de MEB del material zeolítico ZN (a), ZNa (b), ZAgiónica (d), losetas características de clinoptilolita (c) y acículas propias de la mordenita (e).....	37
<b>Figura 10.</b> Imágenes de MEB de la ZAgnpT; a ) X100; b) y c) X1,500 y d) X10,000.....	38
<b>Figura 11.</b> Imágenes de MEB de las muestras acondicionadas con plata y sometidas a irradiación con plasma (ZAgnpP); a ) X100; b), c) y d) X1,500.....	39
<b>Figura 12.</b> Imágenes de MET del material zeolítico natural ZN, a) X200,000 y b) X40,000.....	40
<b>Figura 13.</b> Imágenes de MET del material zeolítico ZNa, a) X200,000 y b) X80,000; y visualizando la presencia de nanopartículas de hierro c) X250,000.....	40
<b>Figura 14.</b> Imágenes de MET del material zeolítico ZAgiónica, a) X200,000 y b) X80,000.....	41
<b>Figura 15.</b> Imágenes MET del material zeolítico ZAgnpT, a) X400,000, b) X120,000, c),X400,000, d) X600,000 y e) Imagen de nanopartículas semi-esféricas.....	42
<b>Figura 16.</b> Imágenes MET del material zeolítico ZAgnpP, a) X600,000 y b) X300,000.....	43
<b>Figura 17.</b> Patrón de difracción de rayos-X de la ZN a) y ZNa b) con las tarjetas de referencia clinoptilolita y mordenita.....	44
<b>Figura 18.</b> Patrones de difracción de rayos-X de plata 089-3722 a), ZNa b) y ZAgiónica c) comparados con los de ZAgnpT d), ZAgnpP e).....	46
<b>Figura 19.</b> Espectro XPS de la zeolita natural (ZN) y los elementos principales que contiene.....	47
<b>Figura 20.</b> Deconvolución de las señales XPS de la ZN correspondientes al O 1s (a), Al 2p (b) y Si 2p (c) así como la energía asociada.....	48
<b>Figura 21.</b> Espectro XPS de la zeolita sódica (ZNa) y los elementos principales que contiene.....	50
<b>Figura 22.</b> Deconvolución de las señales XPS de la ZNa correspondientes al O 1s (a), Al 2p (b) y Si 2p (c) así como la energía asociada.....	51
<b>Figura 23.</b> Espectro XPS de la zeolita con plata iónica (ZAgiónica) y los elementos principales que contiene.....	53
<b>Figura 24.</b> Deconvolución de las señales XPS de la ZAgiónica correspondientes al O 1s (a) y Ag 3d <sub>5/2</sub> (b) así como la energía asociada.....	54

<b>Figura 25.</b> Espectro XPS de la zeolita con plata reducida por extracto de toronja (ZAgnpT) y los elementos principales que contiene.....	56
<b>Figura 26.</b> Deconvolución de las señales XPS de la ZAgnpT correspondientes al O 1s (a) y Ag 3d <sub>5/2</sub> (b) así como la energía asociada. ....	57
<b>Figura 27.</b> Espectro XPS de la zeolita con plata reducida por irradiación con plasma y los elementos principales que contiene. ....	59
<b>Figura 28.</b> Deconvolución de las señales XPS de la ZAgnpP correspondiente al O 1s (a), Ag 3d <sub>5/2</sub> (FWHM 1) (b) y Ag 3d <sub>5/2</sub> (FWHM 0.64) (c) así como la energía asociada. ....	60
<b>Figura 29.</b> Sobrevivencia de <i>E. coli</i> en de agua desionizada (100mL) frente a ZNa, ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP (20 mg). ....	64
<b>Figura 30.</b> Cinética de desinfección para <i>E. coli</i> en agua desionizada (100 mL) frente a ZAgnpP (20 mg). ....	65
<b>Figura 31.</b> Desorción de plata por el material ZAgnpP (20 mg) en agua desionizada (100 mL) con respecto al tiempo y <i>E. coli</i> como microorganismo de prueba. ....	66
<b>Figura 32.</b> Modelo de <i>Korsmeyer-Peppas</i> aplicado a la desorción de plata por el material ZAgnpT (20 mg) considerando a <i>E. coli</i> en agua desionizada (100mL) como microorganismo de prueba. ....	67
<b>Figura 33.</b> Sobrevivencia de <i>E. faecalis</i> en agua desionizada (100 mL) frente a ZNa, ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP (20mg). ....	68
<b>Figura 34.</b> Cinética de desinfección de <i>E. faecalis</i> en agua desionizada (100 mL) frente a ZAgnpP (a) y ZAgnpT (b) (20 mg).....	70
<b>Figura 35.</b> Desorción de plata por el material ZAgnpP (20mg) en agua desionizada (100 mL) con respecto al tiempo y <i>E. faecalis</i> como microorganismo de prueba. ....	71
<b>Figura 36.</b> Modelo de Higuchi aplicado a la desorción de la plata por el material ZAgnpP (20 mg) considerando a <i>E. faecalis</i> en agua desionizada (100 mL) como microorganismo de prueba. ....	72
<b>Figura 37.</b> Sobrevivencia de <i>C. albicans</i> en agua desionizada (100 mL) frente a ZNa, ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP (20 mg). ....	73
<b>Figura 38.</b> Cinética de desinfección de <i>C. albicans</i> en agua desionizada (100 mL) frente a ZAgnpT (a) y ZAgnpP (b) (20 mg).....	75
<b>Figura 39.</b> Desorción de plata por el material ZAgnpT (20 mg) en agua desionizada (100 mL) con respecto al tiempo y <i>C. albicans</i> como microorganismo de prueba.....	76
<b>Figura 40.</b> Modelo de <i>Korsmeyer- Peppas</i> aplicado a la desorción de la plata por el material ZAgnpT (20 mg) en agua desionizada (100 mL) con respecto al tiempo considerando a <i>C. albicans</i> como microorganismo de prueba.....	77
<b>Figura 41.</b> Sobrevivencia del consorcio <i>E. coli</i> - <i>E. faecalis</i> - <i>C. albicans</i> en agua desionizada (100 mL) frente a ZNa (20 mg). ....	78
<b>Figura 42.</b> Sobrevivencia del consorcio de <i>E. coli</i> (a), <i>E. faecalis</i> (b) y <i>C. albicans</i> (c) en agua desionizada (100 mL) frente a ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP (20 mg). ....	80

<b>Figura 43.</b> Cinética de desinfección de <i>E. coli</i> (a), <i>E. faecalis</i> (b) y <i>C. albicans</i> (c) frente a ZAgnpT (20 mg) en consorcio y agua desionizada (100 mL).....	84
<b>Figura 44.</b> Desorción de plata por el material ZAgnpP (20 mg) en agua desionizada (100 mL) con respecto al tiempo, el consorcio microbiano como microorganismos de prueba.....	85
<b>Figura 45.</b> Modelo de <i>Korsmeyer- Peppas</i> aplicado a la desorción de la plata por el material ZAgnpT (20 mg) con respecto al tiempo, considerando al consorcio en agua desionizada (100 mL) como microorganismos de prueba.....	87
<b>Figura 46.</b> Supervivencia del consorcio <i>E. coli</i> - <i>E. faecalis</i> - <i>C. albicans</i> , en agua desionizada (100 mL) con $\text{Fe}^{+3}$ y $\text{Mn}^{2+}$ frente a ZNa (20 mg).....	90
<b>Figura 47.</b> Supervivencia del consorcio de <i>E. coli</i> (a), <i>E. faecalis</i> (b) y <i>C. albicans</i> (c) en agua desionizada con $\text{Mn}^{2+}$ y $\text{Fe}^{2+}$ frente a ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP. ....	93
<b>Figura 48.</b> Cinética de desinfección de <i>E. coli</i> (a), <i>E. faecalis</i> (b) y <i>C. albicans</i> (c) frente a ZAgnpT, en consorcio y agua desionizada con $\text{Fe}^{3+}$ y $\text{Mn}^{2+}$ .....	97
<b>Figura 49.</b> Desorción del $\text{Na}^{+}$ por el material ZNa (20 mg) con respecto al tiempo y el consorcio en agua desionizada (100 mL) en presencia de $\text{Fe}^{3+}$ y $\text{Mn}^{2+}$ , como microorganismos de prueba.....	98
<b>Figura 50.</b> Desorción de la $\text{Ag}^{+}$ por el material ZAgnpP (20 mg) en agua desionizada (100 mL) con $\text{Fe}^{3+}$ y $\text{Mn}^{2+}$ con respecto al tiempo y el consorcio como microorganismos de prueba. ....	100
<b>Figura 51.</b> Modelo de <i>Korsmeyer- Peppas</i> aplicado a la desorción de la plata por el material ZAgnpT (20 mg) con respecto al tiempo, considerando al consorcio en agua desionizada (100 mL) con $\text{Mn}^{2+}$ y $\text{Fe}^{3+}$ , como microorganismos de prueba.....	101
<b>Figura 52.</b> Remoción del hierro y manganeso por la ZAgiónica (20 mg) con respecto al tiempo y el consorcio en agua desionizada (100 mL) con $\text{Mn}^{2+}$ y $\text{Fe}^{3+}$ , como microorganismos de prueba. ....	102
<b>Figura 53.</b> Sorción de hierro y manganeso por el material zeolítico ZAgnpT(a) y ZAgnpP(b) con respecto al tiempo y el consorcio en agua desionizada (100 mL) con $\text{Fe}^{3+}$ y $\text{Mn}^{2+}$ .....	104
<b>Figura 54.</b> Pozo de abastecimiento ubicado en el “Barrio Panteón Cuexcontitlán”. ....	105
<b>Figura 55.</b> Supervivencia del consorcio <i>E. coli</i> - <i>E. faecalis</i> - <i>C. albicans</i> en agua de pozo (100 mL) frente a ZNa (20 mg). ....	108
<b>Figura 56.</b> Supervivencia del consorcio de <i>E. coli</i> (a), <i>E. faecalis</i> (b) y <i>C. albicans</i> (c) en agua de pozo (100 mL) frente a ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP (20 mg).....	110
<b>Figura 57.</b> Cinética de desinfección de <i>E. coli</i> (a), <i>E. faecalis</i> (b) y <i>C. albicans</i> (c) en consorcio y agua de pozo (100 mL) frente a ZAgnpP (20 mg). ....	113
<b>Figura 58.</b> Desorción del $\text{Na}^{+}$ por el material ZNa (20 mg) con respecto al tiempo y el consorcio en agua de pozo (100 mL), como microorganismos de prueba. ....	114
<b>Figura 59.</b> Desorción de la $\text{Ag}^{+}$ por el material ZAgiónica (20 mg) en agua de pozo (100 mL) con respecto al tiempo y el consorcio como microorganismos de prueba.....	115

<b>Figura 60.</b> Modelo de <i>Korsmeyer- Peppas</i> aplicado a la desorción de la plata por el material ZAgiónica (20 mg), considerando al consorcio en agua de pozo (100 mL), como microorganismos de prueba.	116
<b>Figura 61.</b> Remoción del hierro y manganeso por ZAgnpT (20 mg) con respecto al tiempo y el consorcio en agua de pozo (100 mL), como microorganismos de prueba.	119
<b>Figura 62.</b> Sorción de hierro y manganeso por ZAgnpT (20 mg) con respecto al tiempo y el consorcio en agua de pozo (100 mL), como microorganismos de prueba.	120
<b>Figura 63.</b> Sobrevivencia del consorcio de <i>E. coli</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>C. albicans</i> en agua de pozo (100 mL) con $\text{Fe}^{+3}$ y $\text{Mn}^{2+}$ adicionado, frente a ZNa (20 mg).	121
<b>Figura 64.</b> Sobrevivencia del consorcio de <i>E. coli</i> (a), <i>E. faecalis</i> (b) y <i>C. albicans</i> (c) en agua de pozo (100 mL) con $\text{Fe}^{3+}$ y $\text{Mn}^{2+}$ adicionado, frente a ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP (20 mg).	123
<b>Figura 65.</b> Cinética de desinfección de <i>E. coli</i> (a), <i>E. faecalis</i> (b) y <i>C. albicans</i> (c) en consorcio en agua de pozo (100 mL) con $\text{Fe}^{3+}$ y $\text{Mn}^{2+}$ adicionado, frente a ZAgiónica (20 mg).	126
<b>Figura 66.</b> Desorción del $\text{Na}^{+}$ por el material ZAgiónicaa (20 mg) con respecto al tiempo y el consorcio en agua de pozo (100 mL) con $\text{Fe}^{3+}$ y $\text{Mn}^{2+}$ .	127
<b>Figura 67.</b> Desorción de la $\text{Ag}^{+}$ por el material ZAgnpT (20 mg) en agua de pozo (100 mL) con $\text{Fe}^{3+}$ y $\text{Mn}^{2+}$ adicionados, con respecto al tiempo y el consorcio como microorganismos de prueba.	128
<b>Figura 68.</b> Modelo de Higuchi aplicado a la desorción de la plata por el material ZAgnpT (20 mg), considerando al consorcio en agua de pozo (100 mL) con $\text{Fe}^{3+}$ y $\text{Mn}^{2+}$ .	130
<b>Figura 69.</b> Remoción del hierro y manganeso por ZAgiónica (20 mg) con respecto al tiempo y el consorcio en agua de pozo (100 mL) con $\text{Fe}^{3+}$ y $\text{Mn}^{2+}$ adicionados.	131
<b>Figura 70.</b> Sorción de hierro y manganeso por ZAgiónica (a) y ZAgnpT (b) con respecto al tiempo y el consorcio en agua de pozo (100 mL) con $\text{Fe}^{3+}$ y $\text{Mn}^{2+}$ adicionados.	132

## ***ACRÓNIMOS***

<b>AA</b>	aminoácidos
<b>ADN</b>	ácido desoxiribonucleico
<b>Ag<sup>o</sup></b>	plata metálica
<b>Ag/Ag</b>	relación Plata/Plata
<b>AgNO<sub>3</sub></b>	nitrato de plata
<b>Al</b>	aluminio
<b>ARN</b>	ácido ribonucleico
<b>ATCC</b>	American Type Culture Collection
<b>Be</b>	energía de enlace
<b>C</b>	concentración del desinfectante
<b>Ca</b>	calcio
<b>Cl<sup>-</sup></b>	cloruro
<b>CONAGUA</b>	Comisión Nacional del Agua
<b>DRX</b>	difracción de rayos-X
<b>e<sup>-</sup></b>	electrón
<b>EDS</b>	espectroscopia de energía dispersa de rayos-X
<b>eV</b>	electrón Volts
<b>FWHM</b>	ancho máximo a la altura media
<b>g</b>	gramos
<b>G2</b>	fase G2 de la mitosis
<b>h</b>	hora
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	peróxido de hidrógeno
<b>JCPDS</b>	Joint Committee of Powder Diffraction Standards
<b>k</b>	constante de velocidad de inactivación ( <b>h<sup>-1</sup></b> )
<b>k</b>	constante de difusión de Higuchi ( <b>h<sup>-1/2</sup></b> )
<b>K<sup>+</sup></b>	ion potasio
<b>K<math>\alpha</math></b>	K-alfa; fuente estándar de rayos X
<b>K(h<sup>-1</sup>)</b>	constante de decaimiento celular
<b>Ln</b>	logaritmo natural
<b>M</b>	molar
<b>MEB</b>	microscopía electrónica de barrido de bajo vacío
<b>MET</b>	microscopía electrónica de transmisión
<b>MHz</b>	megahercio
<b>M<sub>t</sub></b>	cantidad de fármaco liberado al tiempo <i>t</i>
<b>M<sub>∞</sub></b>	cantidad total del fármaco retenido inicialmente por el sólido
<b>n</b>	coeficiente de dilución
<b>N</b>	Número de organismos al tiempo <i>t</i>
<b>N<sub>o</sub></b>	Número inicial de microorganismos
<b>NaCl</b>	cloruro de sodio
<b>nm</b>	nanómetro
<b>NOM</b>	Norma Oficial Mexicana
<b>np</b>	nanopartícula



<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	radical superóxido
<b>°C</b>	grados Celsius
<b>OH</b>	radical hidroxilo
<b>pKa</b>	constante de disociación ácida
<b>pH</b>	potencial hidrógeno
<b>PVA</b>	polivinilalcohol
<b>ROS</b>	especies de oxígeno reactivo
<b>rpm</b>	revoluciones por minuto
<b>R<sup>2</sup></b>	coeficiente de determinación
<b>SH</b>	grupos tiol
<b>SOD</b>	super oxido dismutasas
<b>sp.</b>	especie
<b>SPS</b>	polisacáridos sulfatados
<b>t</b>	tiempo
<b><i>tlat</i></b>	tiempo de latencia
<b>TSA</b>	agar triptisoya caseína
<b>TSB</b>	caldo triptisoya caseína
<b>UFC</b>	unidades formadoras de colonias
<b>XPS</b>	espectrómetro de fotoelectrones inducidos por rayos-X
<b>%</b>	porcentaje
<b>γ</b>	proteobacteria
<b>θ</b>	ángulo 2 theta

## RESUMEN

A pesar del esfuerzo por desarrollar diferentes técnicas para el tratamiento del agua, todavía existe una preocupación por la prevalencia de enfermedades relacionadas con este elemento, principalmente en comunidades donde no está debidamente desinfectada. Uno de los principales problemas relacionados con la calidad del agua potable es que en el suministro de agua la contaminación por hierro y manganeso es común ya que estos elementos se encuentran disueltos o asociados a partículas en suspensión en sitios próximos a los cuerpos de agua; por lo tanto, el precipitado de estos metales puede establecerse en el interior de las tuberías, lo que a su vez favorece el desarrollo de microorganismos y permite la contaminación biológica del agua. Por consiguiente, es importante desarrollar técnicas de sanitización de bajo costo y no tóxicas, para el tratamiento del agua, especialmente en aguas que presenten valores que superen los máximos permitidos por la NOM-127-SSA1-1994. Con base en lo anterior, se propuso evaluar la actividad microbicida de zeolitas intercambiadas con nanopartículas de plata, frente a un consorcio microbiano -Gram positivo-Gram negativo- levadura-, y la presencia de  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$  como interferentes en el agua a tratar.

La zeolita de Oaxaca se acondicionó con sodio para obtener un material monoiónico. Además el material zeolítico sódico se trató con plata iónica y posteriormente a partir de esa plata iónica se sintetizaron las nanopartículas de plata empleando dos técnicas diferentes: generando plasma con un reactor de placas paralelas de barrera dieléctrica y empleando extracto de toronja. Los materiales zeolíticos se caracterizaron por microscopia electrónica de barrido de bajo vacío (MEB), microscopia electrónica de transmisión (MET), análisis elemental, difracción de rayos-X (DRX) y espectroscopia de fotoelectrones inducidos por rayos-X (XPS). Estas técnicas complementarias mostraron las características morfológicas propias de la clinoptilolita-mordenita así como la presencia, forma y tamaño de nanopartículas. Los elementos principales que componen el material zeolítico son silicio, aluminio, oxígeno, sodio y plata. Además los resultados indicaron que las técnicas de reducción y acondicionamiento no colapsan la estructura cristalina del material. Por último se determinó el estado de oxidación en el que se encuentran los

elementos en la matriz zeolítica. Por lo tanto, la plata iónica reducida con plasma presenta mayor eficiencia para generar compuestos y estados de oxidación de la plata los cuales son esenciales durante el proceso de inhibición microbiana.

Se evaluó la actividad antimicrobiana de los tres materiales zeolíticos acondicionados con plata iónica y reducida (ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP) a nanopartículas en presencia de los microorganismos de manera individual y del consorcio microbiano (*E. coli*- *E. faecalis*- *C. albicans*) en agua desionizada y agua de pozo. Además se determinó la interferencia de dos metales  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$ , en el proceso de desinfección. La eficiencia de los materiales zeolíticos ZAgnpT y ZAgnP es mayor comparada con ZAgiónica, en los procesos de desinfección. En agua desionizada con  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$  las cinéticas de desinfección se ven favorecidas con los materiales de plata reducidos (ZAgnpT y ZAgnpP) frente a ambas bacterias (*E. coli* y *E. faecalis*). Sin embargo, la zeolita intercambiada con plata iónica (ZAgiónica) fue más eficiente para la levadura. En ambas soluciones acuosas la desorción de la plata iónica se llevó a cabo de manera eficiente, sin embargo cuando los metales estuvieron presentes en las soluciones, la desorción fue mayor y no hubo interferencia durante el proceso de desinfección.

El agua de pozo de la localidad de San Andrés Cuexcontitlán, presentó concentraciones de  $\text{Mn}^{2+}$  superiores a las establecidas por la NOM-127-SSA1-1994, sin embargo la concentración de  $\text{Fe}^{3+}$  fue menor al límite permisible. Durante el proceso de desinfección, la velocidad de decaimiento celular en el agua de pozo es considerablemente mayor por los materiales de plata reducida, en comparación con el agua destilada, por lo que la desorción de plata de los materiales zeolíticos está asociada al intercambio iónico y por lo tanto a la calidad del agua.

## ABSTRACT

Despite efforts to develop different techniques for water treatment, there is still a concern about the prevalence of water-related diseases, especially in communities where water is not properly disinfected. One of the main problems related to drinking water quality is that iron and manganese contamination in the water supply is common and can be found in natural environments, dissolved or associated with suspended particles; therefore, the precipitate of these metals can be established inside the pipes, which in turn favors the development of microorganisms and allows the biological contamination of the water. Consequently, it is important to develop low-cost and non-toxic sanitation techniques for water treatment, especially in waters with values that exceed the maximum permitted by NOM-127-SSA1-1994. Therefore in this work, the evaluation of the microbicide activity of ionic silver zeolites and silver nanoparticles in zeolites was proposed, considering a microbial consortium -Gram positive-Gram negative- yeast-, and in the presence of  $\text{Fe}^{3+}$  and  $\text{Mn}^{2+}$  as interferents in the water to be treated.

Oaxaca zeolite was conditioned with sodium to obtain a monoionic material. In addition, the sodium zeolite material was treated with ionic silver and later silver nanoparticles were synthesized using two different techniques: generating plasma with a reactor of parallel plates of dielectric barrier and using grapefruit extract. The zeolitic materials were characterized by low vacuum scanning electron microscopy (SEM), transmission electron microscopy (TEM), elemental analysis, X-ray diffraction (XRD) and X-ray photoelectron spectroscopy (XPS). These complementary techniques showed the morphological characteristics of clinoptilolite-mordenite as well as the presence, shape, and size of nanoparticles. The main elements that make up the zeolitic material are silicon, aluminum, oxygen, sodium, and silver. In addition, the results indicated that the reduction and conditioning techniques do not collapse the crystalline structure of the material. The oxidation state in which the elements in the zeolite matrix were found also was determined. Therefore, plasma-reduced ionic silver is more efficient at generating silver compounds with several oxidation states, which are essential during the microbial inhibition process.

The antimicrobial activity of the three zeolite materials conditioned with ionic and reduced silver to nanoparticles (ZAgionica, ZAgnpT, and ZAgnpP) in the presence of the individual microorganisms and the microbial consortium (*E. coli*, *E. faecalis*, and *C. albicans*) in deionized water and well water was evaluated. In addition, the interference of two metals ( $\text{Fe}^{3+}$  and  $\text{Mn}^{2+}$ ) was determined on the disinfection process. The efficiency of zeolite materials ZAgnpT and ZAgnpP is higher compared to ZAgionica in the disinfection processes. In deionized water with  $\text{Fe}^{3+}$  and  $\text{Mn}^{2+}$ , disinfection kinetics were favored with the reduced silver materials (ZAgnpT and ZAgnpP) against both bacteria (*E. coli* and *E. faecalis*). However, zeolite exchanged with ionic silver (ZAgionica) was more efficient for yeast. In both aqueous solutions, the desorption of the ionic silver was carried out efficiently; however, when the metals were present in the solutions, the desorption was higher and there was no interference during the disinfection process.

Well water from the locality of San Andrés Cuexcontitlán had  $\text{Mn}^{2+}$  concentration higher than those established by NOM-127-SSA1-1994, but the  $\text{Fe}^{3+}$  concentration was below the allowable limit. During the disinfection process, the cell decay velocity in the well water was considerably higher for the reduced silver materials compared to those observed for distilled water, so the silver desorption of the zeolitic materials is associated with the ion exchange and, therefore, the quality of the water.

## INTRODUCCIÓN

Existen varios tratamientos para la desinfección del agua, sin embargo, las enfermedades de origen hídrico son difícilmente erradicadas principalmente en comunidades rurales dispersas. Por ello es necesario contar con tratamientos alternativos de bajo costo, pero eficientes. Los metales como el hierro y el manganeso se encuentran en los ambientes naturales, disueltos o asociados a partículas en suspensión. Los precipitados de estos metales se depositan en el interior de las tuberías y favorecen el desarrollo de microorganismos. Para la potabilización se emplean agentes químicos, los que requieren un control estricto en su dosificación, para evitar riesgos en la salud del consumidor. Es entonces necesario optimizar las técnicas de tratamiento del agua, en particular de desinfección, para los casos que presentan concentraciones de hierro y manganeso superiores a las permitidas por la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994. Por tal motivo en el presente trabajo, se propuso el uso de un material zeolítico modificado con plata iónica y con nanopartículas de plata, como desinfectantes alternativos. Estos agentes microbicidas fueron evaluados sobre un consorcio microbiano conformado por un organismo Gram positivo, un Gram negativo y una levadura, tanto en agua desionizada, como en agua de pozo, con ausencia y presencia de hierro y/o manganeso en un sistema en lote. El uso del material zeolítico modificado con plata, permitió evaluar el proceso de desinfección para cada uno de los microorganismos y del consorcio microbiano. También se consideró, el efecto del  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$  sobre los procesos de desinfección y de intercambio iónico en el material zeolítico.

## **1 ANTECEDENTES**

### **1.1 Agua**

El agua limpia es absolutamente esencial para la salud pública, por lo que es necesario disponer de métodos para obtener agua de calidad, la cual puede verse alterada fácilmente, convirtiéndola en la vía de transmisión de un gran número de enfermedades. La poca eficiencia para inactivar patógenos en el tratamiento de agua y sistemas de distribución han favorecido brotes de enfermedades (Hossain et al., 2014).

La disposición de agua potable es una condición esencial para la salud y bienestar de la población. De acuerdo a la CONAGUA 2015, más del 90% de la población en México, tiene cobertura de agua potable, es decir agua entubada dentro de su vivienda o de la llave pública.

Debido al crecimiento demográfico, el uso antropogénico y el manejo inapropiado, la contaminación del agua ha incrementado (Hossain et al., 2014). Con sustancias inorgánicas que pueden llegar a modificar la calidad del agua y limitar su uso como es el caso del hierro y el manganeso.

Por ello es necesario establecer métodos de tratamiento que eviten o limiten la propagación de enfermedades infecciosas.

### **1.2 Desinfección del agua**

Los principales contaminantes biológicos del agua son los que se encuentran en heces fecales humanas tras la ingesta e incluyen: bacterias, hongos, virus, protozoarios y helmintos. Estos microorganismos se multiplican en el intestino y se excretan en las heces; pueden sobrevivir fuera del cuerpo humano, en un medio acuático y en el suelo, desde donde contaminan el agua (Traverso, 1996; Madigan et al., 2004; Tchobanoglous et al., 2003).

El control de las enfermedades transmitidas por el agua se logra mediante diversos métodos de desinfección empleando un agente físico, biológico o químico como la cloración, yodación y ozonación, eliminando los microorganismos existentes capaces de producir enfermedades, utilizando el agua como vehículo (De Vargas y Barrenechea, 2004).

La desinfección es un proceso selectivo: no destruye todos los organismos presentes en el agua y no siempre elimina todos los organismos patógenos. Un agente antimicrobiano es un compuesto químico que inhibe el crecimiento de los microorganismos.

Tchobanoglous et al. (2003) y Rutala et al. (2008), proponen que el desinfectante ideal debe presentar las siguientes propiedades (Tabla 1), ambos autores hacen énfasis en el cuidado de la salud humana.

Tabla 1. Características de un desinfectante ideal de acuerdo con trabajos reportados en la literatura.

<i>Propiedades / respuesta</i>	Tchobanoglous et al., en el 2003	Rutala et al., en el 2008
	Debe deodorizar mientras desinfecta	Amplio espectro antimicrobiano a temperatura ambiente y en corto tiempo
	Debe ser uniforme en composición	No debe generar ningún subproducto dañino durante y después de su uso
	No debe ser absorbido por materia orgánica diferente a células bacterianas	
	No debe corroer metales o manchar prendas	El desinfectante no debe afectar la salud humana
	Debe ser tóxico para microorganismos y no tóxico a humanos y otros animales	
	Debe tener la capacidad de penetrar a través de superficies	Fácil almacenaje, soluble en agua, no debe ser corrosivo para ningún equipo ni superficie
	Debe ser seguro de transportar, almacenar, manipular y usar	
	Debe ser soluble en agua o tejido celular	Susceptible de disposición segura
	Debe ser efectivo a altas diluciones	
	Debe ser efectivo en el intervalo de temperatura ambiente	Fácil aplicación y económico
	Debe estar disponible en grandes cantidades y a un precio razonable	



Además existen diversos factores que influyen la acción de los desinfectantes, por ejemplo: tiempo de contacto, concentración del desinfectante, intensidad y naturaleza del agente, temperatura, tipo de organismo y la naturaleza del medio (Tchobanoglous et al., 2003).

### **1.2.1 Modelos Cinéticos de Desinfección**

Se conocen diversas variables que influyen en el proceso de desinfección (ya antes mencionados), sin embargo el tiempo de contacto es una de las más importantes. En 1908, Chick estableció un modelo matemático en el cual señala que el número de organismos destruidos por unidad de tiempo es proporcional número de organismos remanentes en el tiempo  $t$ , una de las formas del modelo de Chick esta dada en la ecuación 1.

Ecuación del modelo de Chick:

$$N = N_0 e^{-k t} \quad [1]$$

Asimismo en 1908, Watson propuso una función logarítmica para relacionar la velocidad de inactivación con la concentración del desinfectante.

De esta manera, la tasa de desinfección está dada en función de las variables de tiempo de contacto y de la concentración del desinfectante. Por lo que existe una modificación para adaptar la ecuación del modelo de Chick (ecuación 2), denominándose:

Ecuación del modelo de Chick- Watson:

$$\ln \frac{N}{N_0} = -k C^n t \quad [2]$$

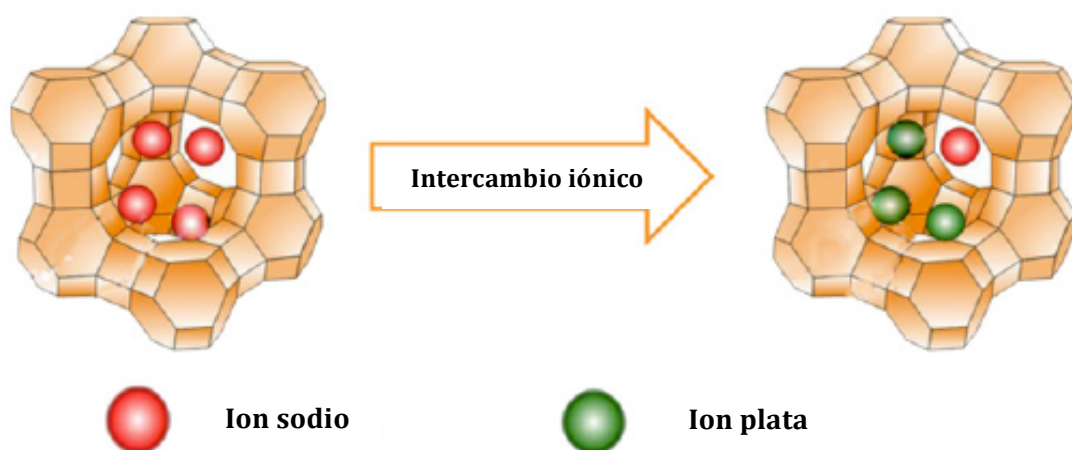
Donde  $N$  es el número de organismos al tiempo  $t$ ,  $N_0$  es la concentración inicial de microorganismos,  $k$  es la constante de velocidad de inactivación,  $C$  es la concentración del desinfectante y  $n$  es el coeficiente de dilución.

Las principales variables a considerar durante el proceso de desinfección son la concentración del desinfectante y el tiempo de contacto. Se pueden diseñar sistemas de desinfección con los valores de  $C^*t$  expresados en  $\text{mg}\cdot\text{h}/\text{L}$  (Tchobanoglous et al., 2003).

### 1.3 Zeolitas y aplicaciones

Las zeolitas naturales están conformadas por tetraedros de  $[\text{SiO}_4]^{4-}$  y  $[\text{AlO}_4]^{5-}$ . Son intercambiadores iónicos. La sustitución isomórfica del Si por Al da origen a la deficiencia de carga negativa, la cual se compensa con cationes tales como  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , entre otros. Esta propiedad se potencia para la obtención de la zeolita intercambiada con plata y su aplicación como agente microbicida.

La clinoptilolita presenta una buena capacidad de unión de metales; es una de las zeolitas naturales más abundantes. Su morfología con una estructura de ocho a diez anillos, presenta canales de fácil acceso; y debido a que se encuentra en diversas regiones, su composición varía y a su vez el comportamiento de intercambio iónico (Nevenka et al., 2009). Las zeolitas son uno de los materiales utilizados como soportes para la incorporación de agentes antimicrobianos inorgánicos como los iones  $\text{Ag}^+$ . En la Figura 1 se ilustra el intercambio iónico entre el sodio intercambiado en la zeolita y los iones plata.



Fuente: Hossain et al., 2014

Figura 1. Intercambio iónico de iones plata por sodio en los canales zeolíticos.

Se han realizado diversas investigaciones relacionadas con zeolitas intercambiadas con plata y su actividad antimicrobiana. Chiericatti et al. (2014) emplean mordenita intercambiada con iones plata para observar sus propiedades antifúngicas. Inouea (2002) encuentra que la actividad bactericida de la zeolita de plata, se ve favorecida en presencia de radicales hidroxilo, estos radicales se forman por la reducción de peróxido de hidrógeno. Shi et al. (2013), fabricaron una membrana antibacterial que contenía zeolitas intercambiadas con plata. Mientras que Nagy et al. (2011); Flores-López et al. (2012) y Rai et al. (2009), emplean las zeolitas intercambiadas con plata para la generación de nanopartículas y para evaluar su efecto antimicrobiano.

#### **1.4 Ion plata y nanopartículas**

La plata ha sido empleada como antibacterial a lo largo de la historia y en diversas ramas de la industria, entre ellas en aplicaciones biomédicas. Fue en la época de los 40's cuando la revolución de los antibióticos inició y con ello el uso de la plata con fines terapéuticos se redujo. Sin embargo, años después surgen cepas resistentes a antibióticos que en la actualidad son tratadas con una gran cantidad de antimicrobianos entre ellos penicilina, vancomicina y tetraciclinas, quienes exhiben eficacia y a su vez comparten responsabilidad en el desarrollo de las resistencias (Allaker et al., 2014, Nagy et al., 2011). A medida que aumenta la cantidad de antibióticos a los que los microorganismos son resistentes, ha aumentado el interés en el uso de metales principalmente la plata, como agentes bactericidas (Jiraroj et al., 2014; Rai et al., 2009).

##### ***1.4.1 Mecanismos de acción de la plata***

Uno de los mecanismos por el cual la plata inhibe el crecimiento bacteriano, se lleva a cabo a partir de la unión de los átomos de  $\text{Ag}^+$  con los grupos tiol ( $-\text{SH}$ ). En la Tabla 2, (Volesky 2007) se muestra la afinidad de la plata a polisacáridos sulfatados y aminoácidos. Estas moléculas son las principales constituyentes de enzimas respiratorias y la unión de la plata a estos grupos propicia su inactivación, al inhibir la incorporación de fosfatos y liberando manitol, succinato, prolina y glutamina de la célula (Rai et al., 2009).

Tabla 2. Grupos funcionales de unión involucrados en la biosorción de plata.

Grupo de unión	Fórmula estructural	pKa	Átomo Ligando	Ocurrencia en biomoléculas seleccionadas
<b>Sulfidril (Tiol)</b>	-SH	8.3 y 10.3	S	Aminoácidos (AA)
<b>Sulfonato</b>	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{S}-\text{O}^- \\   \\ \text{O}^- \end{array}$	1.3	O	Polisacáridos Sulfatados (SPS)

Las especies de plata que forman enlaces estables S-Ag con compuestos que contienen grupos tiol en la membrana celular, interrumpe la generación de energía transmembranal y el transporte de iones al interior de la célula. Además forman parte de la acción catalítica de oxidación que da como resultado enlaces disulfuro (R-S-S-R) los cuales modifican la forma de la célula. Estos enlaces pueden modificar estructuras proteicas y enzimáticas de vital importancia tales como ribosomales o relacionadas con la respiración celular y generación de ATP, lo que puede ocasionar la muerte de la célula (Liau et al., 1997; Eckhardt et al., 2013; Rai et al., 2009).

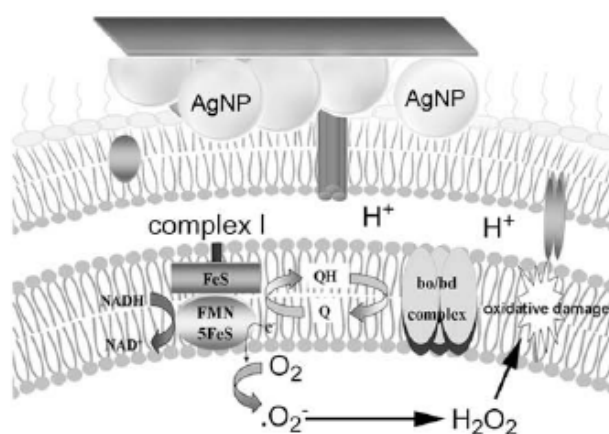
A nivel intracelular se propone que los iones  $\text{Ag}^+$  se intercalan entre las bases púricas y pirimidínicas evitando que se forme el enlace de hidrógeno entre las cadenas antiparalelas por lo que el ADN se desnaturaliza (Allaker et al., 2014; Hossain, et al., 2014; Matsumura et al., 2003). Las bacterias Gram (+) presentan mayor resistencia que las Gram (-) debido a las diferencias en su pared celular (Hossain et al., 2014).

En comparación con partículas convencionales de mayor tamaño, las partículas metálicas coloidales y subcoloidales ofrecen varias ventajas potenciales como una elevada reactividad superficial, ya que así se aumenta el área superficial con relación a su volumen, existiendo una mayor masa de éste disponible para reaccionar.

Se han desarrollado diferentes técnicas para conseguir mayor área superficial específica mediante la obtención de nanopartículas (Allaker et al., 2014; Hossain et al.,

2014). Debido a su reducido tamaño de partícula y elevada reactividad, las nanopartículas metálicas pueden ser útiles en una gran variedad de aplicaciones ambientales, entre ellas, la actividad antimicrobiana de las nanopartículas de plata en zeolitas.

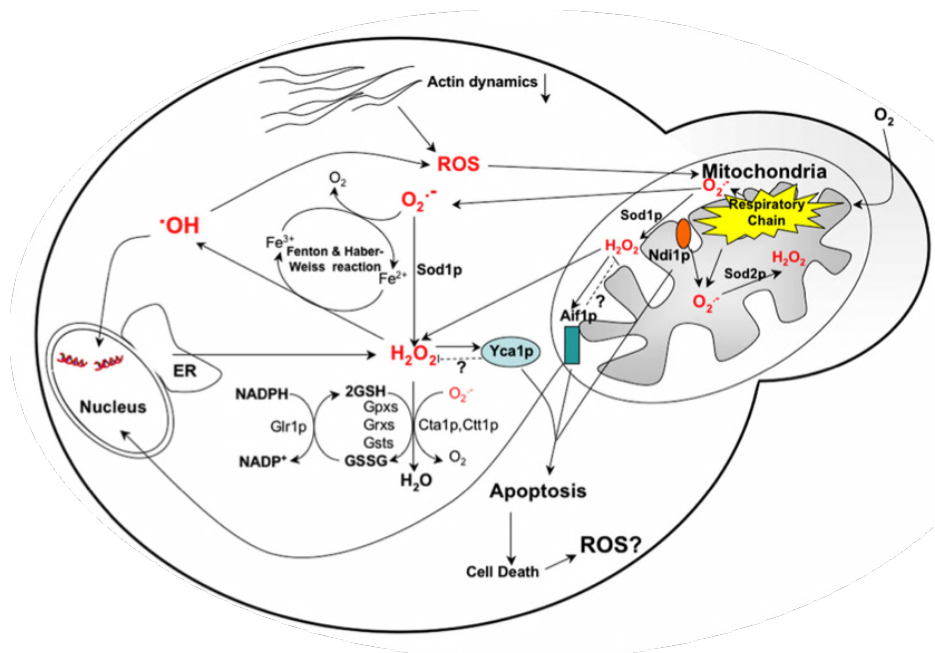
Hossain et al. (2014) y Eckhardt et al. (2013) proponen que las nanopartículas de plata se acumulan en la pared celular bacteriana como se muestra en la Figura 2. Se unen al ácido desoxiribonucleico, interactúan con enzimas y proteínas de membrana y forman especies reactivas de oxígeno (ROS por sus siglas en inglés) inducidas por plata.



Fuente: Su et al., 2009

Figura 2. Nanopartículas de plata en pared celular bacteriana.

Las ROS son oxidantes reactivos de vida corta, los cuales incluyen al radical superóxido ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ), radical hidroxilo ( $\text{OH}^{\cdot}$ ), peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) y oxígeno ( $\text{O}_2$ ). Estos pueden ser generados dentro o fuera de la célula producto del metabolismo aerobio y su producción depende del ambiente al que están expuestos y la toxicidad del oxígeno ocurre, cuando el estrés oxidativo supera los sistemas de defensa de la célula (Farr y Kogoma, 1991). En la Figura 3 se muestran las vías de generación y los posibles efectos de las ROS en las levaduras descrito por Perrone et al. (2008).



Fuente: Perrone et al., 2008

Figura 3. Especies reactivas de oxígeno intracelulares en levaduras. En rojo especies involucradas en la apoptosis celular.

### 1.5 Modelos cinéticos de desorción de Plata

Los materiales zeolíticos son empleados como intercambiadores iónicos, debido a su composición de redes tridimensionales tetraédricas. Esta red permite el acomodo de moléculas de tamaño diverso entre ellas fármacos y a su vez permite la liberación de estas moléculas con la capacidad oligodinámica propia de las zeolitas. Para conocer una aproximación del mecanismo mediante el cual se lleva a cabo la desorción de la plata, los resultados se ajustan a modelos matemáticos.

Paradee y Sirivat en el 2016, hacen uso de zeolita 'Y' en un hidrogel como transporte de ácido fólico y su mecanismo de liberación. Asimismo Ainurofiq y Choiri en el 2014, emplearon montmorillonita como transporte del fármaco captopril, para controlar la liberación de dicho medicamento. Ambos se basaron en el modelo cinético de Korsmeyer y Peppas para conocer los mecanismos de liberación del medicamento. Este modelo matemático describe la cinética del proceso de liberación de una especie química retenida

en una fase sólida a un medio líquido en el que está en contacto por la difusión debido al gradiente de concentración el cual es un modelo generalizado de la ecuación propuesta por Higuchi (Aragón et al., 2009).

#### ***1.5.1 Ley de difusión parabólica (Higuchi)***

La ley de Fick describe que el flujo difusivo que atraviesa una superficie, es proporcional al gradiente de concentración. El modelo Higuchi (1963) describe el proceso de liberación de fármacos a partir de matrices no erosionables y lo describe como la fracción de fármaco liberado como una función de la raíz cuadrada del tiempo, que es a su vez un proceso de difusión simple que sigue la primera Ley de Fick, y se representa de la siguiente forma:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k t^{\frac{1}{2}} \quad [3]$$

Donde  $t$  es el tiempo de liberación,  $M_t$  es la cantidad de fármaco liberado al tiempo  $t$ ,  $M_\infty$  es la cantidad total del fármaco retenido inicialmente por el sólido y  $k$  es la constante de velocidad de liberación de Higuchi.

#### ***1.5.2 Modelo de Korsmeyer- Peppas***

Korsmeyer y colaboradores (1983), desarrollaron un modelo que relaciona la liberación de un fármaco de manera exponencial con respecto al tiempo, es decir una modificación generalizada de la ecuación de la ley de Fick. Se emplea para conocer si la cinética de liberación del fármaco obedece a la ley de Fick o a un mecanismo diferente:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k t^n \quad [4]$$

Donde  $t$  es el tiempo de liberación,  $M_t$  es la masa de fármaco liberado al tiempo  $t$ ,  $M_\infty$  es la masa total del fármaco retenido inicialmente por el sólido y  $k$  es la constante de velocidad de liberación que depende de las características estructurales y geométricas de la matriz sin hinchamiento o contracción y  $n$  es el exponente que está relacionado con los mecanismos de liberación de la siguiente manera:

$n$  cercano 0.50, la liberación sigue un mecanismo de difusión de Fick y la difusión es el principal mecanismo implicado.

$n$  cercano a 1, se ajustan al modelo de cinética de orden cero y la difusión se produce a una velocidad constante con respecto al tiempo, si no cambia la geometría del sistema durante el proceso de liberación.

$n$  mayor que 0.50 y menor que 1, mecanismo que implica ambos procesos tanto de difusión como de relajación de la matriz polimérica, se le denomina difusión anómala (Aragón et al., 2009).

## 1.6 Métodos de síntesis de nanopartículas de plata

La nanotecnología es un campo de investigación reciente y sus productos son ampliamente empleados por diversas áreas biológicas, físicas, químicas y médicas. El rápido crecimiento de este campo científico, tiene la necesidad de desarrollar técnicas de síntesis que repercutan en un menor daño a los ecosistemas, en las cuales la cantidad de compuestos químicos empleados sea el mínimo.

De manera general los procesos de síntesis de nanopartículas se pueden clasificar en tres grupos: Químicos, Físicos y Biológicos.



### ***1.6.1 Métodos Químicos***

Los métodos químicos de síntesis de nanopartículas, son los más empleados debido a su potencial para ser escalados. El tamaño, forma, estabilidad y propiedades tanto físicas como químicas están fuertemente influenciados por las condiciones experimentales. Los procesos químicos de síntesis de nanopartículas incluyen el uso de una variedad de agentes orgánicos e inorgánicos, entre los que se incluye citrato de sodio, ascorbato, borohidruro de sodio, hidrógeno elemental, polietilenglicol, reactivo de Tollens, en soluciones acuosas o no acuosas.

### ***1.6.2 Métodos Físicos***

Evaporación- condensación, termólisis, irradiación con microondas y ablación laser son los métodos físicos más empleados en la síntesis de nanopartículas (Boutinguiza et al., 2015). La ausencia de un solvente contaminante es una de las ventajas, comparado con los métodos químicos. Además es posible adaptar el método a gran escala y bajo costo.

### ***1.6.3 Métodos Biológicos***

La síntesis biológica involucra el empleo de hongos (Sastry et al., 2003), algas incluyendo cianobacterias (Yousefzadi et al., 2014; Patel et al., 2015) y plantas y sus extractos (Kumar et al., 2014), para lograr la reducción de iones metálicos. Los organismos pueden producir las nanopartículas intra o extracelularmente sobre fibras de algodón, fique y hojas de papaya como soporte (Chmielewska y Sartowska, 2012; Sankar et al. 2014; Ovalle, 2012). El tamaño y morfología de las nanopartículas puede ser controlada modificando condiciones como pH, luz, temperatura, donador de  $e^-$ , concentración de biomasa y concentración de sustrato (Sathishkumar, 2009). Es ampliamente utilizada, debido a que es económica y totalmente inocua. Sin embargo presenta desventajas debido a los tiempos de reacción y baja escala de producción.

La síntesis verde de nanopartículas de plata (NPs Ag) se basa en la selección de un medio solvente y la selección de un agente reductor no tóxico o benéfico para el ambiente. En la tabla 3 se engloban los procesos de síntesis verde de NPs Ag y sus características más importantes.

Tabla 3. Métodos comúnmente empleados en la síntesis verde de nanopartículas de plata.

Método	Reactivo reductor	Tamaño de partícula (nm)	Ventajas
Polisacáridos	B-D-glucosa	40 - 80	Evita el uso de solvente orgánico tóxico. Reacciones reversibles a alta temperatura que permiten separar las nanopartículas.
	Heparina		
Tollens	Sacáridos m-Hydroxbenzaldehido Amonio	25 - 450	Tamaño de partícula controlable. Diferentes concentraciones
Radiación Laser	No requiere agente reductor	5 - 20	Nanopartículas con forma y tamaño bien definido. Bajo poder y tiempo de irradiación nanopartículas de 20 nm; alto poder = 5 nm
Irradiación por microondas	Etilenglicol	5 - 10	Altamente estables. Diferentes formas de acuerdo al tiempo de contacto.
	Aminoácidos		
Radiación ionizante	Etilenglicol	>10	Variación dependiendo de la dosis de irradiación.
Radiación gamma	Agua acética	4 - 5	
	Polivinilalcohol (PVA)	60 - 200	Permite la modificación de su tamaño y forma al modificar variables experimentales.
Acelerador de electrones	No requiere agente reductor	20- 25	
Biológico			
Extractos de plantas	Moléculas biológicas (Glutation, Triptofan, Ácido oleico)	30.5	Nanopartículas observables después de 24 h
Hongos, plantas, algas, cianobacterias.	Proteínas y procesos enzimáticos		Generación de nanopartículas Intra o extracelular

Fuente: (Sharma, 2009)

La síntesis verde de nanopartículas por métodos físicos y biológicos ofrecen más ventajas sobre los métodos químicos, debido a que son económicos, inocuos y emplean al mínimo reactivos y energía.

Debido a las ventajas antes mencionadas sobre los métodos de síntesis verde, en el presente trabajo se eligieron dos métodos, los cuales se describen a continuación.

### **1.7 Síntesis por irradiación con plasma**

Un plasma es un gas neutro parcialmente o totalmente ionizado (partículas cargadas). Consiste en portadores de cargas libres, iones y electrones, radicales activos y moléculas que están en estados excitados, que son eléctricamente conductivos. El sustrato está fuera de la zona de descarga y el depósito se lleva a cabo sin contacto directo con el plasma, sin embargo se producen especies disociadas fuera del plasma que entran en contacto con el sustrato, dando lugar a una reacción heterogénea. El plasma es generado por diferencias de potencial eléctrico, con esto se logra el calentamiento del sustrato sin la necesidad de un calefactor externo (Sánchez- Gómez, 2008).

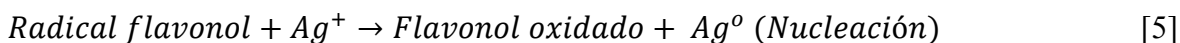
### **1.8 Síntesis con extracto de toronja**

La toronja es fuente de nutrientes y fotoquímicos, azúcares como la glucosa, fructosa y sacarosa, que está en grandes cantidades principalmente en su jugo.

El género *Citrus sp.* es diverso y dependiendo de la planta la concentración, de flavonoides se diversifica a lo largo de cada organismo y a su vez de las partes de este, encontrándose la mayor concentración en la cáscara del fruto (Khan et al., 2014). La actividad bioquímica de los flavonoides y sus metabolitos dependen de su estructura química, la excelente actividad antioxidante está involucrada con la capacidad de la molécula de donar electrones o átomos de hidrógeno (Vidhu y Philip 2014).

Terenteva et al. (2015), sugieren que los flavonoides juegan un papel importante durante la síntesis verde de nanopartículas, además se menciona que los flavonoides son los responsables de la reducción de los iones plata. Quercetina y rutina son los flavonoides que principalmente reducen la plata y se generan las nanopartículas.

De acuerdo a AL-Thabaiti et al. (2015) se lleva a cabo una reacción de electro-oxidación- reducción para la reducción de  $Ag^+$  a  $Ag^0$ , por medio de flavonoides (ecuación 5).



Sin embargo, en la síntesis de nanopartículas no solamente interactúan los flavonoides como agentes reductores, sino también los fenoles, proteínas y carbohidratos participan como agentes estabilizantes, quienes proveen estabilidad a las nanopartículas de plata (Ahmed et al., 2015).

### 1.9 Hierro y Manganeseo

El hierro y el manganeso son metales abundantes en la corteza terrestre; asimismo ambos se pueden encontrar naturalmente en el agua (Ates, 2014). Son considerados elementos traza esenciales y su requerimiento diario es de 2-5 mg/día para el manganeso el cuál actúa como activador de enzimas o metaloenzimas y de 1- 2 mg/día para el hierro, contenido principalmente en proteínas del grupo hemo; por ello el consumo de estos oligoelementos a través del agua no tiene efectos perjudiciales en el ser humano (Prashanth et al., 2015). Sin embargo, cuando los niveles exceden los requeridos para cubrir con sus funciones biológicas, la exposición a manganeso puede ocasionar síndrome de Parkinson y la toxicidad del hierro se asocia principalmente a enfermedades metabólicas y genéticas por transfusiones sanguíneas frecuentes (Fraga, 2005).

Estos elementos, Fe y Mn, son comunes en los suministros de agua, pueden estar en aguas subterráneas y superficiales anaerobias en forma soluble, sin provocar afectaciones (Hassouna et al., 2014). Sin embargo, al entrar en contacto con el oxígeno, el manganeso ( $MnO_2$ ) y el hierro ( $Fe(OH)_3$ ) forman sólidos que se precipitan fácilmente y proporcionan un color café/rojizo desagradable al agua además del valor de pH, temperatura entre otros factores que intervienen en la conversión de soluble a insoluble. La presencia de estos elementos en forma oxidada, obstruyen las tuberías provocando pérdidas en la red de

conducción, accesorios y bombas y ocasiona problemas de olor, color y sabor al agua potable, incrementando la turbiedad y acelerando el crecimiento biológico, contribuyendo a la formación de biopelículas gelatinosas en los sistemas (tuberías y tanques) (CONAGUA, 2007).

De acuerdo a la NOM-127-SSA1-1994, el contenido de hierro y manganeso debe ajustarse a los límites permisibles en agua potable (0.3 mg/L y 0.15 mg/L, respectivamente). En caso de exceder estas concentraciones, se deben aplicar tratamientos tales como: filtración por membrana, precipitación por oxidación, intercambio iónico, filtración biológica u ósmosis inversa (Hassouna et al., 2014). La Comisión Nacional de Agua, propone el uso de materiales como las zeolitas, para la remoción (adsorción y oxidación) de Fe y Mn solubles, gracias a sus propiedades de intercambio iónico (CONAGUA, 2007). En el presente trabajo de investigación se consideraron las ventajas del material zeolítico tipo clinoptilolita, como intercambiador de iones a fin de modificarlo con iones plata, ya que en investigaciones microbiológicas dichos iones han mostrado una alta actividad desinfectante contra microorganismos como las bacterias (De la Rosa, 2007; Chiericatti, et al., 2014; Kim, et al., 2007; Rai, et al., 2009). Las bacterias que se consideraron como indicadores de contaminación microbiológica fueron del tipo Gram negativo y Gram positivo. Sin embargo, además se incluyó una levadura por ser un organismo eucarionte y comparar la respuesta de cada uno (bacterias y levadura), al agente microbicida. Aunado a ello, se consideró investigar el efecto de los iones hierro y manganeso sobre dicho proceso, así como el mecanismo de intercambio asociado, por considerarse como interferentes del agua a tratar.

#### **1.10 Microorganismos**

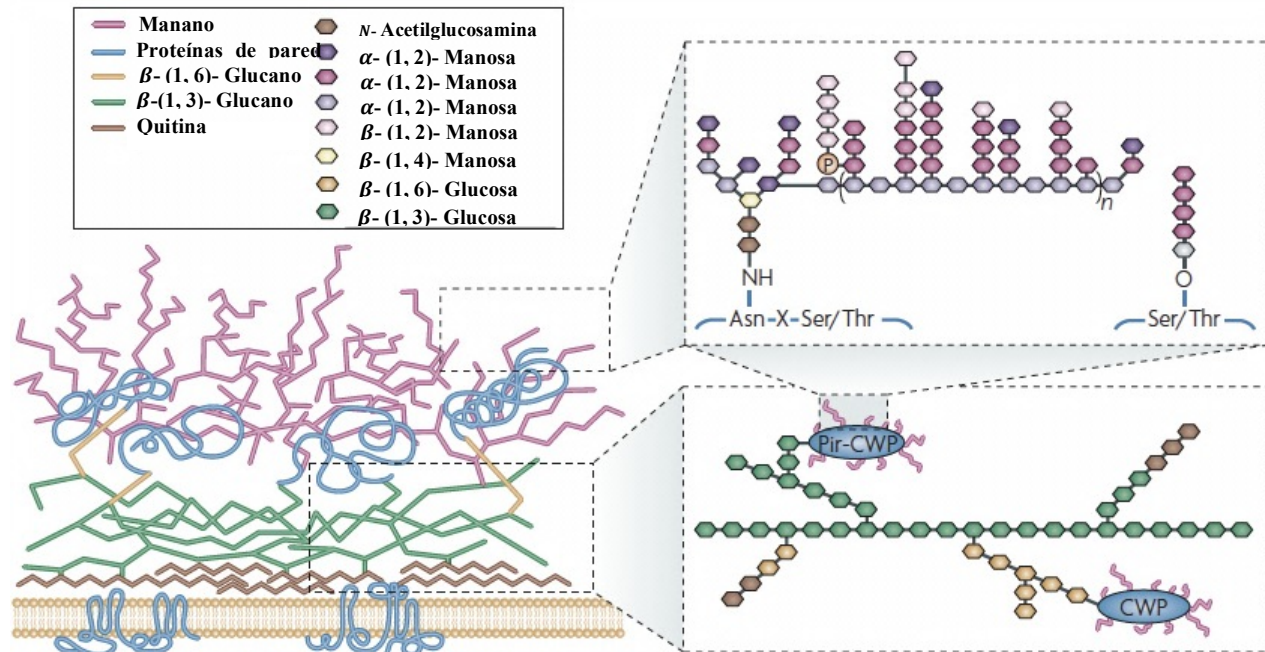
Los organismos pueden clasificarse en dos grupos de acuerdo a su estructura: Eucariotas (levadura) y Procariotas (bacterias). Las células eucariotas presentan un compartimento especializado para el almacenaje de su ADN denominado núcleo, mientras los procariotas no lo almacenan condensándolo y a esta estructura se le denomina nucleóide.

La superficie celular tiene dos papeles importantes: mantener la integridad de la célula e interactuar con el ambiente. La pared y membrana celular son cruciales para la vida de la célula, manteniendo las diferencias entre el contenido y el entorno.

La membrana de las células eucariotas es una estructura dinámica, fluida y la mayoría de sus moléculas pueden desplazarse en el plano de la membrana. Está conformada por una bicapa lipídica y proteínas transmembrana, cuya principal función es la permeabilidad selectiva (Alberts et al., 2008).

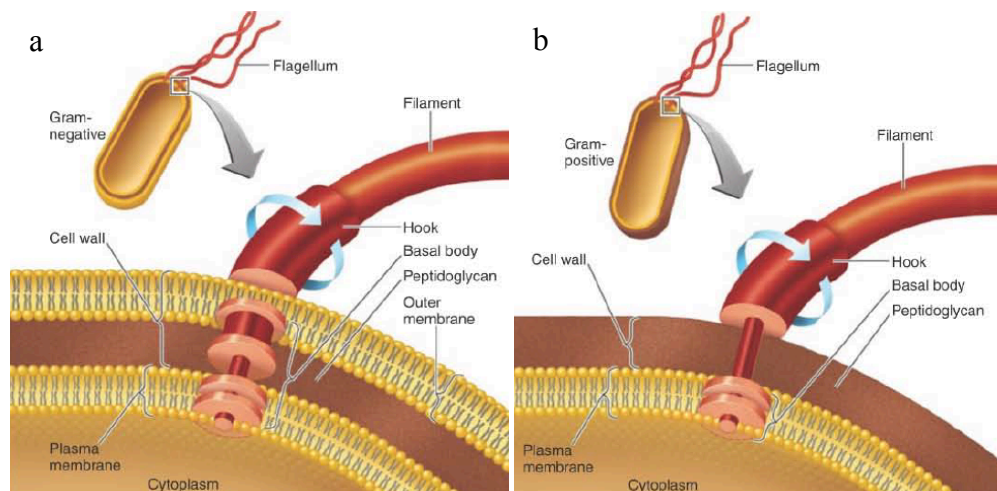
Además de la membrana celular, las levaduras cuentan con una estructura externa denominada pared, la cual está conformada por capas de polisacáridos fibrilares (manano, quitina y celulosa), además de estar asociada a polisacáridos y lípidos (antígenos) (Figura 4) (Netea et al., 2008). Debajo de la pared se encuentra la membrana plasmática que contribuye a darle forma y protección a la célula. Presentan esteroides para darle rigidez y el género *Candida sp.*, cuenta con una cápsula antifagocítica (Herrera y Ulloa, 1998).

En el caso de las bacterias, se clasifican en dos grandes grupos, en función de su estructura de la pared celular, como lo muestra la Figura 5 (Tortora et al., 2010). La pared celular de las bacterias Gram positivas, se compone en un 90 % de una capa gruesa de peptidoglicano, un polímero que consiste en azúcares y aminoácidos y en un 10% de ácidos teicoicos y lipoteicoicos, que proporcionan estabilidad adicional a la pared, además de proteínas (Figura 5 a). La capa de peptidoglicano, de las bacterias Gram negativas es delgada y constituye solo un 10 % de la pared, presentan una membrana adicional compuesta de fosfolípidos y lipopolisacáridos (antígenos) alrededor de la capa de peptidoglicano, que tiene funciones especializadas como barrera contra antibióticos (Figura 5 b) (Eckhardt et al., 2013; Madigan et al., 2004).



Fuente: Netea et al., 2008

Figura 4. Estructura de la pared celular de *Candida albicans*.



Fuente: Tortora et al., 2010

Figura 5. Pared celular bacteriana a) Gram negativa, b) Gram positiva.

#### **1.10.1 *Escherichia coli* (*E. coli*)**

*Escherichia coli* es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo no formador de esporas, móvil por flagelos. La especie pertenece a la Familia Enterobacteriaceae del grupo  $\gamma$  –Proteobacteria. Generalmente fermenta lactosa, posee lisina descarboxilasa, produce indol. Es el anaerobio facultativo más común en las heces y el colon de los humanos y varias especies de mamíferos. Se encuentra en una concentración de entre  $10^7$  -  $10^8$  organismos vivos por gramo de heces (Schaechter, 2009). *Escherichia coli* coloniza al hospedero desde el nacimiento y reside de manera permanente en el intestino, estableciendo simbiosis para toda la vida, sin embargo, ciertas cepas pueden causar infecciones intestinales (Murray et al., 1999; Vidal et al., 2007).

#### **1.10.2 *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*)**

*Enterococcus faecalis* es un coco Gram positivo; patógeno oportunista que causa infecciones endocárdicas, epidérmicas, en el tracto urinario, coloniza las mucosas humanas mediante adhesinas presentes en su pared y puede invadir otras regiones cercanas al lumen intestinal, atravesando la pared de éste e incorporándose a vías linfáticas; los enterococos han adquirido importancia porque son resistentes a una gran cantidad de antibióticos de uso frecuente, lo que incrementa las tasas de mortalidad humana debidas a estos organismos (Harwood et al., 2001).

#### **1.10.3 *Candida albicans* (*C. albicans*)**

*Candida albicans* es una levadura, hongo unicelular que se reproduce principalmente por gemación y ocasionalmente por fisión binaria. Pertenece a la Subdivisión Deuteromycota. Presenta una forma pseudohifal (Figura 8), las células se alargan sin desprenderse, este tipo de morfología es intermedia entre una cadena de células de levadura y una hifa (Dimorfismo) (Walker, 2009).



La *Candida albicans* es el agente etiológico de la Candidiasis, infección cosmopolita oportunista más frecuente en seres humanos, es una levadura comensal que provoca una infección superficial de la piel (micosis), infecciones nosocomiales y la mucosa oral, infección llamada algodoncillo (Herrera y Ulloa 1998); afecta individuos de cualquier edad y sexo.

El género *Candida* existe en la naturaleza, en toda sustancia rica en hidratos de carbono simples. Son habitantes de zonas mucocutáneas, del aparato respiratorio y digestivo, animales domésticos y del hombre; en éste último tiene una pequeña población y otros miembros de la microbiota intestinal (lactobacilos y bacterias anaerobias). Una dieta rica en dulces o frutas, son factores que controlan el aumento de la población en el intestino.

## 2 JUSTIFICACIÓN

Actualmente existen trabajos basados en el uso de las zeolitas intercambiadas con iones plata como desinfectantes, por las ventajas que éstas presentan con respecto a otro tipo de agentes microbicidas. Sin embargo, aún se desconoce cómo se lleva a cabo el intercambio de la plata en presencia de hierro y manganeso, mientras la zeolita realiza su actividad microbicida en el agua. En agua potable que presente estos metales, es importante conocer dichas interacciones y evaluar la interferencia de éstos, por razones sépticas. La remoción de  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$  es necesaria debido a que promueven el desarrollo de otros microorganismos causando la recontaminación del agua y propiciando el aumento de la cantidad de desinfectante a emplear (cloración). Además, las especies metálicas ofrecen un sabor desagradable al agua y dependiendo de su concentración, pueden ser tóxicos. Es importante mencionar que en condiciones aeróbicas, forman sedimentos café oscuro (manganeso) y café rojizo (hierro), dándole un aspecto desagradable al agua para beber.

Diversos estudios han realizado pruebas de desinfección con zeolitas modificadas, utilizando un solo organismo (*E. coli*). Sin embargo, en esta investigación se evaluaron dichos materiales zeolíticos intercambiados con plata iónica y reducida a nanopartículas, frente a un consorcio de organismos patógenos in vitro (*E. coli*-*E. faecalis*-*C. albicans*). También se evaluaron los agentes microbicidas a base de zeolita natural, frente a los microorganismos de manera individual, partiendo tanto de soluciones acuosas de  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$ , como de agua de pozo.

### 3 HIPÓTESIS

La clinoptilolita modificada con plata desinfecta el agua, independientemente de la especie química de plata presente en el material zeolítico ( $\text{Ag}^+$  y  $\text{Ag}^0$ ) y de los microorganismos que conforman el consorcio microbiano (*Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*). La presencia de hierro y manganeso modifica la eficiencia de la desinfección y al ser especies catiónicas, se intercambian con los iones que compensan la carga de la red cristalina del material zeolítico, removiéndose también estos contaminantes del agua.

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 *Objetivo general*

Evaluar la actividad microbicida de zeolitas intercambiadas con nanopartículas de plata, frente a un consorcio microbiano -Gram positivo-Gram negativo- levadura-, considerando dos tipos de especies químicas de plata en la estructura zeolítica ( $\text{Ag}^{+1}$  o  $\text{Ag}^0$ ), y la presencia de  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$  como posibles interferentes en el agua a tratar, así como proponer los mecanismos de desinfección del agente microbicida y el efecto que el hierro y manganeso tienen sobre la sobrevivencia microbiana y su interacción con los sitios de intercambio de la estructura del material zeolítico.

### 4.2 *Objetivos específicos*

- a) Acondicionar la roca zeolítica con una sal sódica, posteriormente con una sal de plata y una vez obtenida la zeolita-plata, obtener nanopartículas de este metal soportadas en la zeolita.
- b) Caracterizar las estructuras del mineral zeolítico natural, sódico, modificado con plata y con nanopartículas de plata.
- c) Evaluar la eficiencia de desinfección de las zeolitas con plata iónica y nanopartículas frente al consorcio microbiano, en un sistema de lote, para comparar la eficiencia del proceso de desinfección, en ausencia y presencia de  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$ .
- d) Evaluar la desorción de la plata del material zeolítico modificado, durante el proceso de desinfección y la interacción de los iones  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$  con el material zeolítico (sorción y/o intercambio).
- e) Aplicar modelos matemáticos para describir el proceso de desinfección y sorción de  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$  por la zeolita modificada con plata.
- f) Proponer los mecanismos de interacción entre los microorganismos y la zeolita modificada con Ag, así como con los iones metálicos  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$ .
- g) Evaluar los modelos y mecanismos propuestos en agua de pozo de una localidad que presente contaminación con  $\text{Mn}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$ .

## 5 METODOLOGÍA

### 5.1 Diagrama del desarrollo experimental.

En la Figura 6 se muestra el esquema del desarrollo experimental, de manera general.

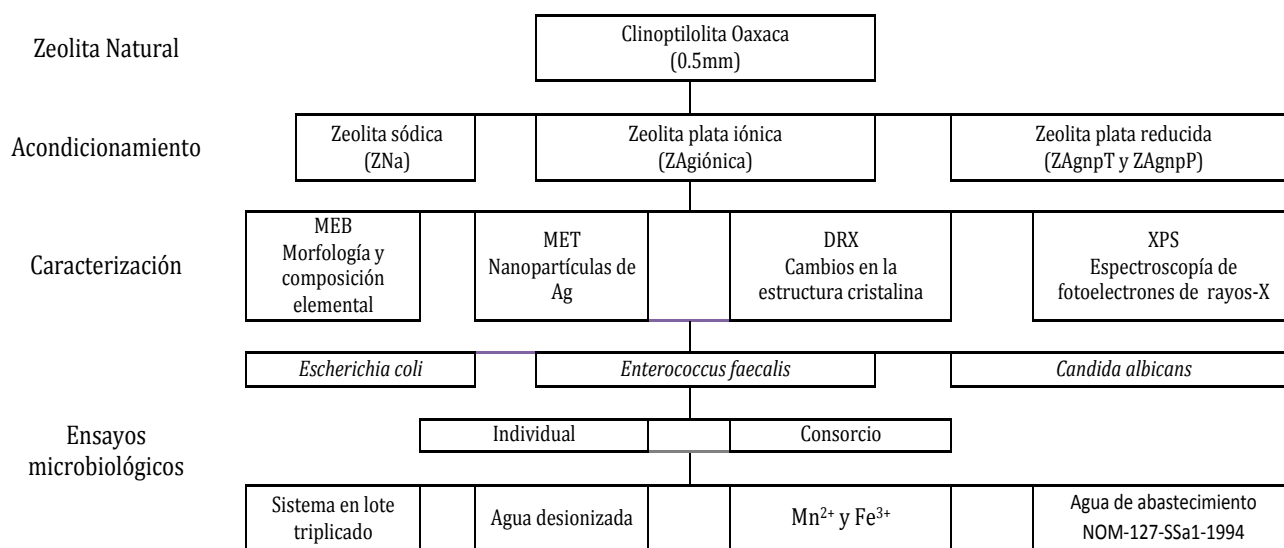


Figura 6. Diagrama del desarrollo experimental.

### 5.2 Acondicionamiento del material zeolítico

#### 5.2.1 Acondicionamiento con NaCl

El material del Estado de Oaxaca ZN con un tamaño de partícula de 0.595 mm (entre malla 20 y 30) se acondicionó con NaCl inicialmente para obtener una zeolita natural homoiónica. Para ello, se adicionaron 250 mL de una solución 0.3 M de NaCl a una muestra de 300 g de dicho material. La mezcla se mantuvo en reflujo durante 12 h. Pasado este tiempo, la solución se separó del sólido y se repitió el procedimiento anterior. El sólido se lavó con agua desionizada hasta la eliminación de los iones  $\text{Cl}^-$ ; para comprobar la ausencia de estos iones, se empleó la prueba de reacción con la precipitación del cloruro de plata, al agregar una solución de nitrato plata a la solución de lavado. La zeolita acondicionada con cloruro de sodio se secó en una estufa a 85 °C, durante 5 h.

### ***5.2.2 Acondicionamiento con Ag iónica***

Una vez obtenido el material zeolítico ZNa, a un lote de 300 g se le adicionaron 500 mL de una solución 0.1 M de  $\text{AgNO}_3$  para obtener la zeolita acondicionada con plata ZAg iónica; se llevó a cabo en un sistema de reflujo y temperatura constante de 80 °C, durante 12 h en dos ocasiones. Una vez efectuado el intercambio, se realizaron lavados con agua desionizada hasta la eliminación del  $\text{NO}_3^-$ . La muestra se secó en una estufa a 85 °C, durante 5h.

## **5.3 Síntesis de nanopartículas de plata**

Se eligieron dos métodos, uno biológico con extracto de toronja y uno físico por irradiación con plasma, para la obtención de nanopartículas de plata.

### ***5.3.1 Método de reducción de plata mediante extracto de toronja***

Se realizó el acondicionamiento de un lote de 30 g del material zeolítico intercambiado con  $\text{Ag}^{+1}$  para lograr la reducción a nanopartículas, el material se puso en contacto durante 3 h con el extracto de toronja (*Citrus paradisi*), el cual fue obtenido empleando 20 g de la cáscara y pulpa de la toronja sin jugo (valor de pH 4.27) y se colocó en ebullición con 100 mL de agua durante 3 minutos y el sobrenadante se empleó como extracto (valor de pH final de 4.41).

Posteriormente se llevó a cabo la caracterización de las nanopartículas generadas mediante Microscopia Electrónica de Transmisión para conocer su forma y distribución sobre el material zeolítico.

### ***5.3.2 Método de reducción de plata mediante irradiación con plasma***

Treinta gramos del material zeolítico acondicionado con plata ZAg iónica, se sometió al plasma mediante un reactor de placas paralelas de barrera dieléctrica, a una radiofrecuencia de 13.56 MHz y un flujo de helio (Figura 7), del cual se generó el plasma caliente. Lotes de 500 mg de ZAg iónica fueron sometidos a una variación de potencia de

100 watts un tiempo de exposición de 3 min, una tasa de flujo de helio de 1.3 L/min y una distancia entre placas de 4.4 mm.



Figura 7. Reactor de placas paralelas de barrera dieléctrica.

En la Tabla 4 se muestran los códigos de cada uno de los materiales obtenidos, tanto los materiales acondicionados con NaCl, modificados con  $\text{Ag}^{+1}$  y nanopartículas  $\text{Ag}^0$ .

Tabla 4. Código de identificación del material zeolítico acondicionado.

Material	Descripción del material	Código
<b>Zeolita natural de Oaxaca</b>		<b>ZN</b>
<b>Zeolita sódica</b>	ZN Acondicionada con NaCl en reflujo a 80 ° C	<b>ZNa</b>
<b>Zeolita plata iónica</b>	ZNa acondicionada con $\text{AgNO}_3$ en reflujo a 80 ° C	<b>ZAgiónica</b>
<b>Formación de nanopartículas con extracto de <i>Citrus paradisi</i></b>		
<b>Zeolita Ag iónica reducción de plata, lote</b>	ZAgiónica ( $\text{Ag}^+$ reducida con extracto de toronja)	<b>ZAgnpT</b>
<b>Formación de nanopartículas mediante irradiación por plasma</b>		
<b>Zeolita Ag iónica reducción de plata, lote</b>	ZAgiónica ( $\text{Ag}^+$ ) reducida con plasma (1.3 L/min de gas helio a 100 watts, 3 min)	<b>ZAgnpP</b>

## **5.4 Caracterización del material zeolítico**

### ***5.4.1 Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) y Espectroscopia de Energía Dispersiva de rayos-X (EDS)***

Los materiales no modificados y modificados con  $\text{Ag}^{+1}$  y  $\text{Ag}^0$ , se caracterizaron mediante microscopía electrónica de barrido (MEB) con un equipo JEOL modelo LV-5900, a fin de observar la morfología de cada uno de ellos. Se determinó además, la composición elemental por espectroscopia de energía dispersiva de rayos-X (EDS), para conocer la composición de los materiales zeolíticos antes y después de los diferentes acondicionamientos.

### ***5.4.2 Microscopía Electrónica de Transmisión (MET)***

Para la caracterización de las nanopartículas se empleó microscopía electrónica de transmisión (MET) con un equipo JEOL JEM-2010, éste permite la visualización de partículas a nivel manométrico, lo cual proporciona información correspondiente al tamaño, forma, dispersión y estructura de las mismas, todo esto gracias a la alta resolución, la velocidad de análisis y las imágenes con alta resolución que se obtienen.

### ***5.4.3 Difracción de rayos-X***

Para conocer la composición mineral y los cambios en la cristalinidad de las zeolitas naturales, las muestras se analizaron mediante difracción de rayos-X (DRX) con un equipo SIEMENS modelo D5000.

### ***5.4.4 Espectroscopia de fotoelectrones inducidos por rayos-X***

Se empleó un espectrómetro de fotoelectrones inducidos por rayos-X (XPS) Thermo Scientific modelo K-Alpha, para determinar el contenido elemental y conocer los estados



químicos de los componentes en superficie de muestras sólidas. El equipo emplea una fuente monocromada de rayos-X Al K $\alpha$  (1486 eV) y trabaja a ultra alto vacío, en el intervalo de 1E-10 - 5E-9 mbar. El sistema cuenta con compensación de cargas estáticas por flujo de iones Ar, para analizar muestras no conductoras y una platina para análisis angular en el intervalo de  $\pm 90^\circ$  con respecto a la superficie de análisis. Las energías fueron determinadas y se cuantificaron las señales de los espectros generales de XPS, así como las deconvoluciones y los ajustes de los espectros detallados del oxígeno, silicio, aluminio y plata, en los materiales que los contenían. El análisis de los datos se llevó a cabo empleando el software OriginPro 8.1, se deconvolucionaron los datos y se ajustaron de acuerdo al valor de ancho de línea (FWHM), de cada elemento analizado.

### 5.5 Muestreo y caracterización de agua de pozo

San Andrés Cuexcontitlán de Hidalgo es una localidad ubicada en el municipio de Toluca, cuenta con una estación de bombeo, de la cual se muestreó y caracterizó el agua de abastecimiento para la comunidad. La estación de bombeo es un área cercada protegida de contaminación exterior. La toma de muestra se llevó a cabo de acuerdo a los métodos estándar de la (APHA-AWWA-WPCF, 2005), la cual indica que el valor de temperatura, pH y conductividad eléctrica sean determinados *in situ*, mientras que las muestras para medir los parámetros microbiológicos y fisicoquímicos se almacenaron a 4 °C, para su transporte. En la Tabla 5, se indican los parámetros considerados para la caracterización del agua de muestreo con base en el Apéndice Normativo (NOM-014-SSA1-1993).

### 5.6 Ensayos microbiológicos

Para evaluar la cinética del proceso de desinfección por las zeolitas sódica, plata iónica y nanopartículas de plata, se realizaron experimentos partiendo de una concentración inicial conocida de  $10^3$  unidades formadoras de colonias (UFC)/mL en 100 mL de agua, por cada organismo *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Enterococcus faecalis* (ATCC 10741) y *Candida albicans* (ATCC 10231). Se probó cada microorganismo de manera individual,

posteriormente fueron tratados en consorcio. El consorcio se probó colocando  $10^3$  (UFC)/mL de cada organismo en 100 mL de agua. Los organismos se cultivaron para su crecimiento en agar triptisoya caseína -TSA, el cual se esterilizó durante 15 minutos a 15 libras de presión y a 120 °C, para posteriormente vaciarse en cajas de Petri. Durante cada prueba se registró la cantidad de microorganismos en función del tiempo [N (t)].

Tabla 5. Métodos de preservación de muestras para la determinación de parámetros físicoquímicos.

Determinación	Material/ Envase	Volumen mínimo (mL)	Preservación	Tiempo máximo almacenamiento
Alcalinidad total	p,v	200	Refrigerar de 4 a 10° C en oscuridad	14 d
Cloro total	p,v	---	Analizar inmediatamente	---
Cloruros	p,v	200	Refrigerar de 4 a 10 °C en oscuridad	48 h
Conductividad	p,v	200	Refrigerar de 4 a 10 °C en oscuridad	28 d
Dureza total	p,v	100	Refrigerar de 4 a 10 °C en oscuridad	14 d
Fosfatos	v	100	Enjuagar envase con ácido nítrico 1:1. Refrigerar de 4 a 10 °C	48h
Magnesio	p,v	100	Refrigerar de 4 a 10 °C	28 d
Metales en general	p,v	1000	Enjuagar el envase con HNO <sub>3</sub> 1:1; adicionar HNO <sub>3</sub> a pH<2; para metales disueltos	180 d
Nitratos	p,v	100	Refrigerar de 4 a 10 °C en oscuridad	48 h
Nitritos	p,v	100	Refrigerar de 4 a 10 °C en oscuridad	48 h
Nitrógeno amoniacal	p,v	500	Adicionar H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> a pH<2 refrigerar de 4 a 10 °C en oscuridad	28 d
Nitrógeno orgánico	p,v	500	Adicionar H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> a pH<2 refrigerar de 4 a 10 °C en oscuridad	28 d
pH	p,v	---	Analizar inmediatamente	---
Sodio	p,v	100	Refrigerar de 4 a 10 °C en oscuridad	28 d
Sólidos	p,v	1000	Refrigerar de 4 a 10 °C en oscuridad	7 d
Sulfatos	p,v	100	Refrigerar de 4 a 10 °C en oscuridad	28 d
Temperatura	p,v	---	Analizar inmediatamente	---

p- plástico ;v- vidrio

### 5.6.1 Precultivo y cuantificación de células microbianas

Se preparó un cultivo de noche con células de *E. coli*, *E. faecalis* y de *C. albicans*. Del cultivo puro de referencia se tomó una muestra, la cual se sembró en 5 mL de caldo triptisoya caseína-TSB. Se incubó durante una noche a temperatura de 37 °C en un baño María con agitación (Gyrotory G76G), para obtener un cultivo de células en etapa exponencial. La solución microbiana se centrifugó (Sorvall RC2-b) dos veces a 10,000 rpm

durante 10 minutos y se resuspendieron (Vortex-2 Genie) en agua desionizada estéril.

#### ***5.6.2 Cinéticas de desinfección del agua por zeolita natural modificada con iones plata como agente microbicida***

Se colocaron 20 mg del mineral zeolítico sódico, plata iónica y nanopartículas de plata, en un matraz de 250 mL con 100 mL de agua desionizada estéril. Los matraces se inocularon con 1 mL de la concentración  $10^3$  UFC de *E. coli*, o *E. faecalis*, o *C. albicans* por separado. Posteriormente para el consorcio, en un matraz de 250 mL con 100 mL de agua desionizada estéril, se colocó 1 mL de la concentración  $10^3$  UFC de *E. coli*, *E. faecalis* y *C. albicans*. Se incubaron a 37 °C durante 5 horas en un equipo Clifton con placa de agitación constante (a una velocidad de 400 pulsaciones/min, en 10 mm de longitud). Se tomaron muestras, para cuantificar la sobrevivencia microbiana en función del tiempo.

A tiempos de 0, 0.125, 0.25, 0.50, 0.75, 1, 2, 3, 5 y 6 h, se tomaron alícuotas de 0.1 mL de cada matraz (agua + bacteria y/o levadura + mineral zeolítico) y se sembraron en cajas de Petri con el medio de cultivo agar triptisoya caseína-TSA (la inoculación en las placas de agar se realizó por triplicado). Las cajas sembradas se incubaron (Thelco GM) a 37 °C durante 24 horas. Posteriormente se contó el número de colonias en cada placa, mediante un contador (C-110- 76887 de New Brunswick Scientific). Se realizaron los cálculos necesarios para obtener el porcentaje de sobrevivencia mediante la determinación de UFC contenidas en 100 mL y con ello conocer el porcentaje de sobrevivencia, asimismo la cantidad de microorganismos como una función del tiempo. Cada experimento se realizó por triplicado, tanto para cada organismo de manera individual, como en consorcio.

De la misma manera se realizaron los experimentos para conocer las cinéticas de desinfección en agua desionizada en presencia de hierro y manganeso, estos elementos se adicionaron al agua en una concentración de 5 mg/L de una sal de  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$  y 2.5 mg/L de una sal de  $\text{MnSO}_4$ . Las concentraciones se determinaron a partir del límite máximo permisible suscrito por la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994.

Para agua de pozo, se realizaron experimentaciones equivalentes a las de agua destilada.

Es importante mencionar, que debido a que la zeolita acondicionada con plata actúa como intercambiador iónico, también se determinaron las concentraciones de Fe y Mn tanto en solución acuosas como en agua de pozo, después de los procesos de desinfección que los contenían. Para ello se empleó un espectrómetro de absorción atómica marca GBC 932 Plus, considerando una longitud de onda de 248.3 nm para el Fe y 279.5 nm para el manganeso. Previo a cada cuantificación, se realizó una curva de calibración para cada uno de los elementos de interés.

#### ***5.6.3 Plata liberada al medio acuoso***

La norma para Salud Ambiental de Agua para uso y consumo humano NOM-041-SSA1-1993, establece el límite máximo permitido de plata (Ag) de  $0.05 \text{ mgL}^{-1}$ . En este trabajo de investigación se cuantificó la concentración de Ag liberada al medio acuoso por espectroscopia de absorción atómica, como para el caso del Fe y Mn, considerando la longitud de onda de 328.1 nm. Los resultados obtenidos se compararon con el valor establecido por la Norma Mexicana ya antes mencionada.

## 6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 Caracterización por Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) y Espectroscopia de Energía Dispersiva de rayos-X (EDS)

#### 6.1.1 Material Zeolítico sódico y con plata iónica

Como se observa en las imágenes de MEB a X100, la roca zeolítica del Estado de Oaxaca ZN, presenta una superficie lisa; una vez acondicionada con sodio ZNa y con plata ZAgiónica, la zeolita muestra regiones donde las losetas y acículas se encuentran expuestas hacia el exterior, lo que podría permitir un mejor intercambio iónico (Figura 8, recuadro naranja).

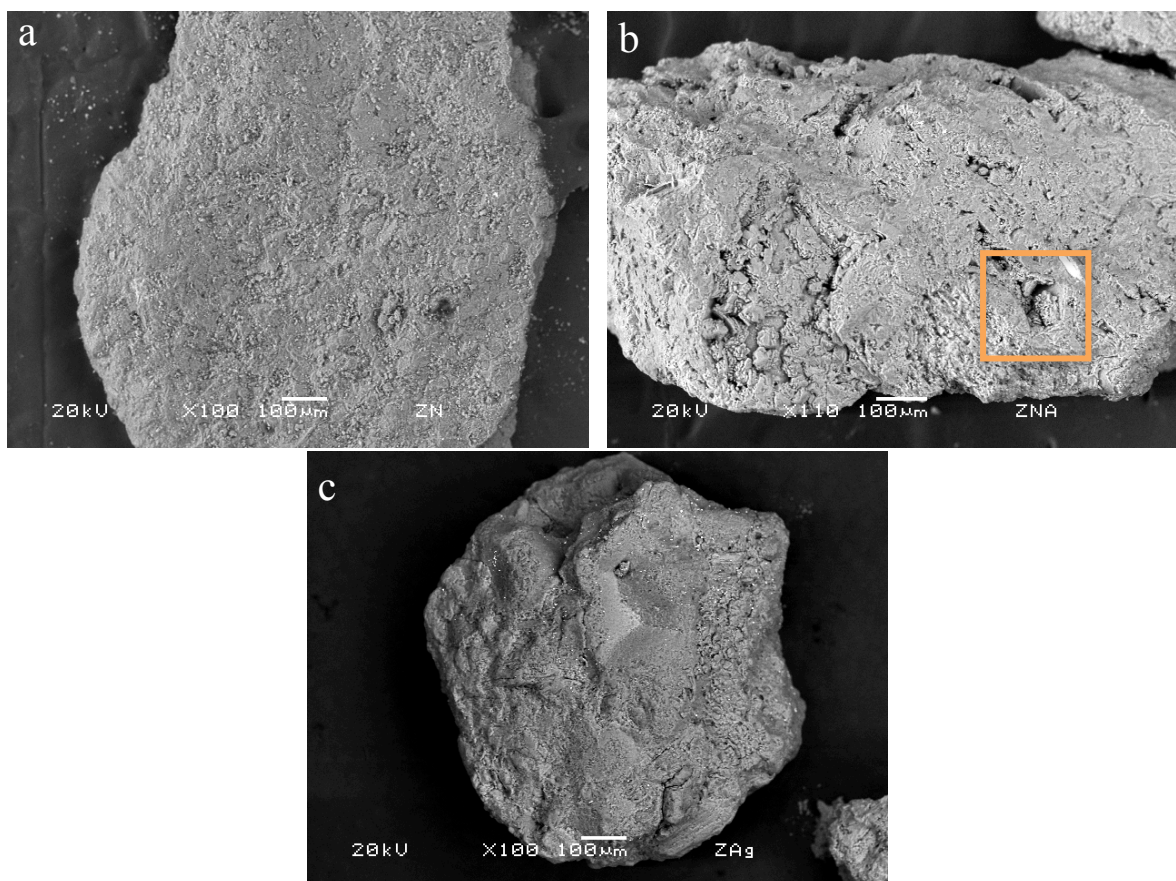


Figura 8. Imágenes de MEB de ZN (a), ZNa (b) y ZAgiónica (c).

Posterior a los acondicionamientos, las estructuras propias de la clinoptinolita-mordenita como se muestra en las imágenes de la Figura 9 (c y e). En el caso de la ZN

(Figura 9 a), las losetas y acículas se encuentran cubiertas por el mismo material, pero al observar las imágenes de ZNa y ZAgiónica (Figura 9 b y d, recuadro naranja), ambas estructuras son evidentes.

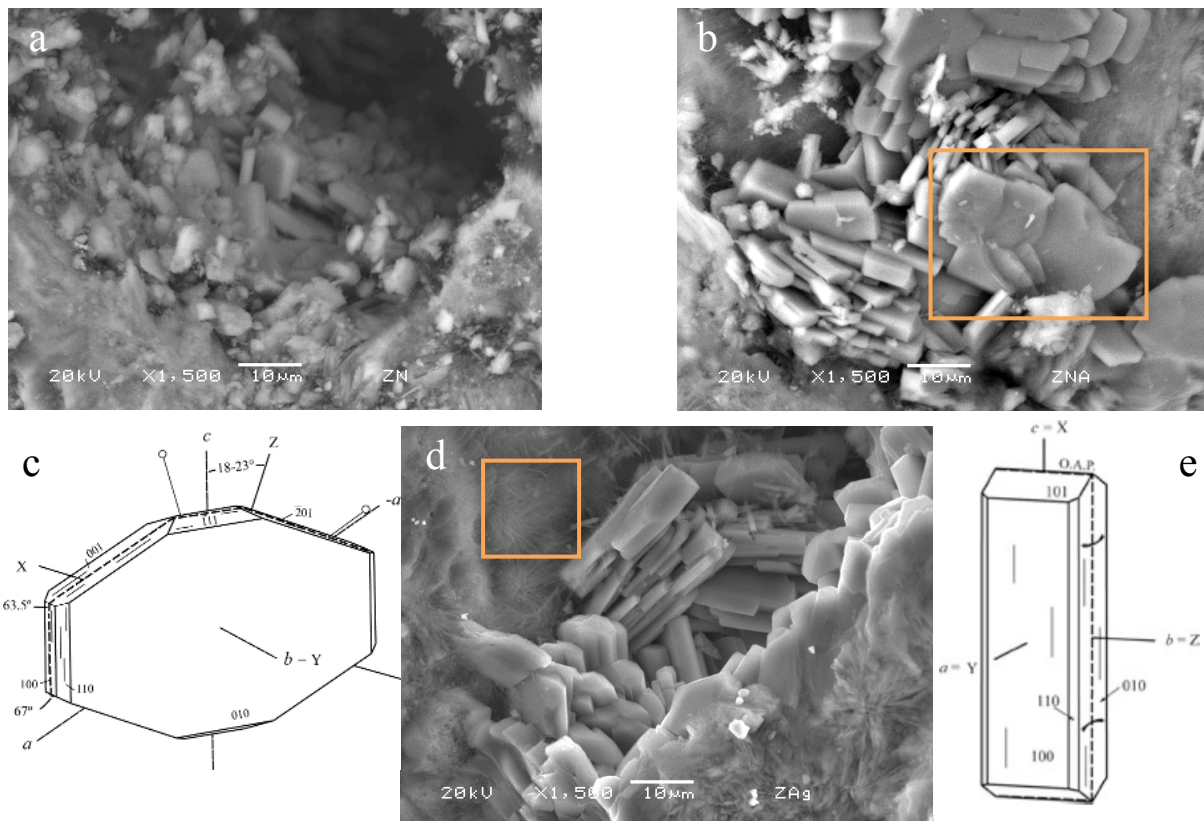


Figura 9. Imágenes de MEB del material zeolítico ZN (a), ZNa (b), ZAgiónica (d), losetas características de clinoptilolita (c) y acículas propias de la mordenita (e).

En cuanto a la composición elemental de la ZN, ZNa y ZAgiónica, se encuentran los elementos con mayor concentración como el silicio, oxígeno y el aluminio, propios de los materiales zeolíticos. Para ZN, además presenta elementos minoritarios donde se destaca la concentración del sodio ( $2.4 \pm 0.10$  %), que es mayor en comparación con el potasio ( $2.0 \pm 0.25$  %), por lo que la zeolita del Estado de Oaxaca es una clinoptilolita-mordenita sódica-potásica. Por otro lado, para la ZNa se observa un aumento en la concentración del Na ( $3.0 \pm 0.03$  % en peso) indicando que se llevó a cabo un intercambio entre los iones nativos de la ZN y los iones  $\text{Na}^+$ . Por último, al observar la concentración de Ag ( $4.6 \pm 0.37$  % en peso) en la ZAgiónica, el intercambio iónico estaría dado entre el  $\text{Na}^+$  de la estructura zeolítica y los iones  $\text{Ag}^+$ , de la solución acuosa.

### 6.1.2 Material zeolítico con plata por extracto de toronja

Posterior al acondicionamiento de la ZAgiónica se empleó el extracto de *Citrus paradisi* (toronja) como agente reductor, la cáscara y la pulpa promovieron la producción de nanopartículas de plata (contrastes blancos pequeños) en el material zeolítico ZAgnpT. Mediante MEB, se corroboró la presencia de plata (Figura 10), encontrándose en una concentración de  $5.17 \pm 1.01$  % en peso.

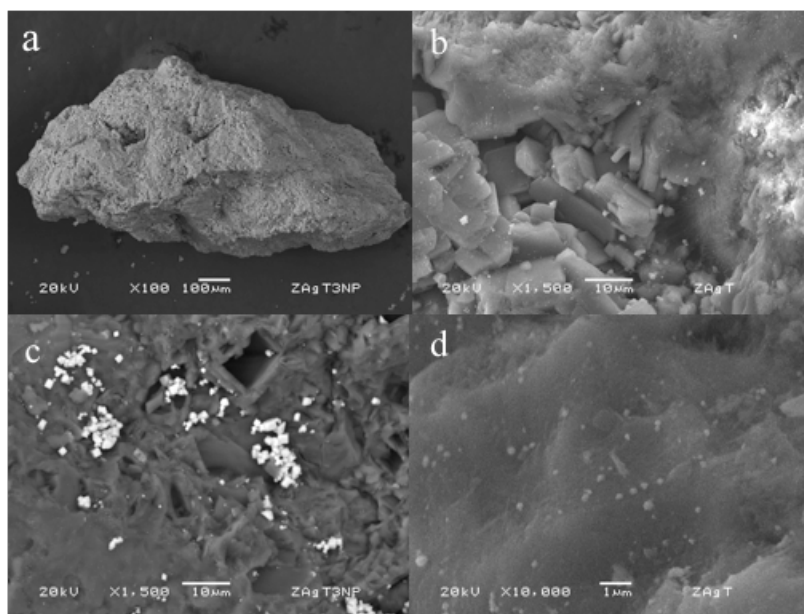


Figura 10. Imágenes de MEB de la ZAgnpT; a ) X100; b) y c) X1,500 y d) X10,000.

### 6.1.3 Material zeolítico con plata reducida por irradiación con plasma

Se realizó la irradiación del material zeolítico ZAgiónico con plasma para la generación de nanopartículas (ZAgnpP). Mediante MEB se observó erosión de la superficie del material zeolítico. Además de la formación de cúmulos micrométricos y los contrastes propios de la plata en la superficie de la roca zeolítica. El contenido de Ag encontrado en la submuestra de ZAgnpP fue de  $5.53 \pm 1.38$  % en peso.



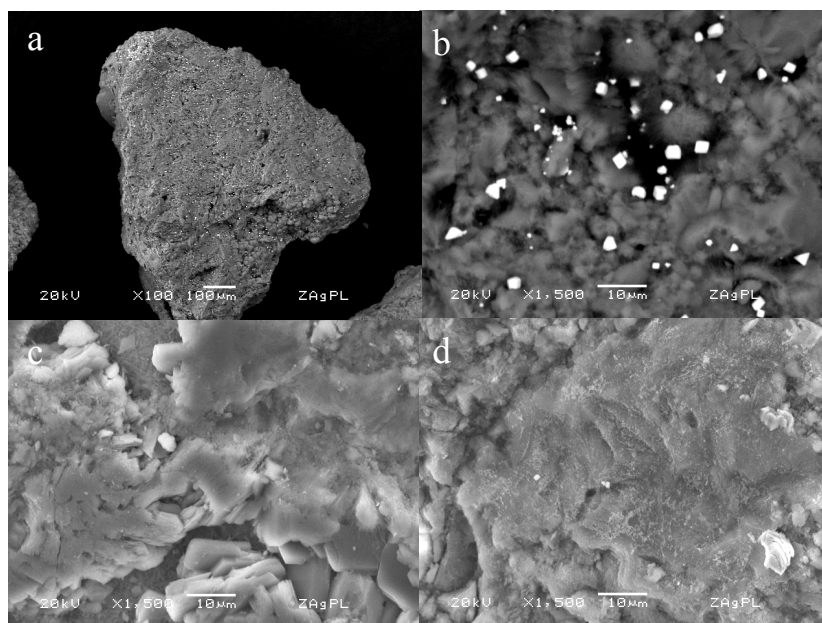


Figura 11. Imágenes de MEB de las muestras acondicionadas con plata y sometidas a irradiación con plasma (ZAgnpP); a ) X100; b), c) y d) X1,500.

## 6.2 Caracterización por Microscopía Electrónica de Transmisión (MET)

### 6.2.1 Material zeolítico natural

Se realizó la caracterización mediante MET, del material zeolítico natural. En algunas regiones del material zeolítico se presentaron nanopartículas de hierro (Figura 12 a, b), propias del material generado en el proceso de erupción volcánica (Breck, 1974) .



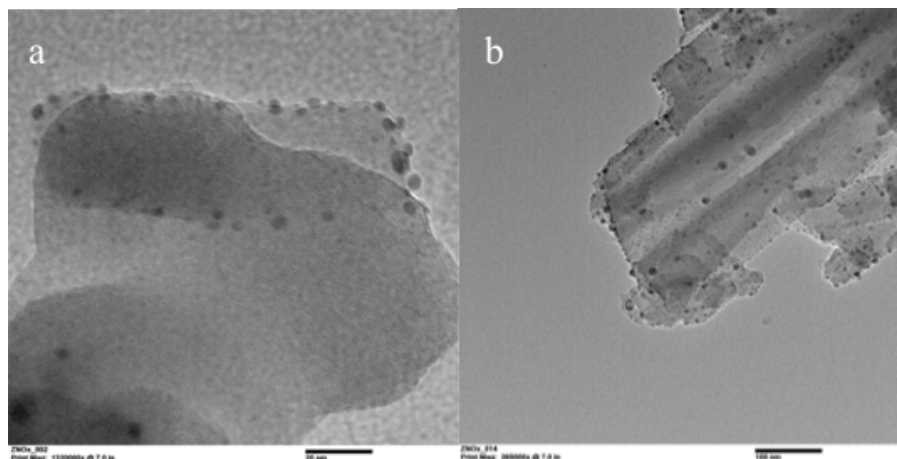


Figura 12. Imágenes de MET del material zeolítico natural ZN, a) X200,000 y b) X40,000.

### 6.2.2 Material zeolítico sódico

Se realizó la caracterización de las nanopartículas del material zeolítico natural intercambiado con sodio, mediante MET, para conocer los cambios atribuidos a este acondicionamiento. En la Figura 14 a y b se observaron cavidades propias de las zeolitas y en secciones aisladas del material, se presentan estructuras 2 a 30 nm. Estas estructuras no están distribuidas homogéneamente dentro de la matriz (Figura 13 c). La forma y los tamaños que se observaron, fueron diversos.

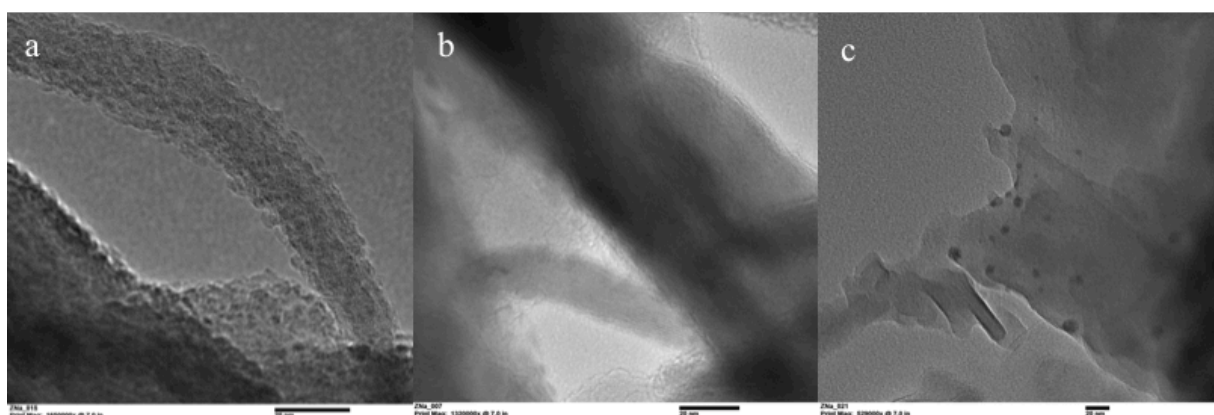


Figura 13. Imágenes de MET del material zeolítico ZNa, a) X200,000 y b) X80,000; y visualizando la presencia de nanopartículas de hierro c) X250,000.

### 6.2.3 Material zeolítico con plata iónica

Se realizó la caracterización mediante MET del material zeolítico intercambiado con plata que fue acondicionado mediante reflujo (ZAgiónica). Se observó, que hay presencia de estructuras o cúmulos de 5 a 30 nm, de forma y tamaño heterogéneo (Figura 14 a, b y c). Estas nanopartículas, no se encontraron distribuidas uniformemente dentro de la matriz. El mecanismo por el cual se lleva a cabo el acondicionamiento del material zeolítico de plata iónica, puede ser un factor determinante para generar las nanopartículas, ya que durante el tiempo en que se lleva a cabo el reflujo, se incrementa la temperatura y el calor generado dentro del matraz, lo que puede provocar que la plata iónica sufra una reducción.

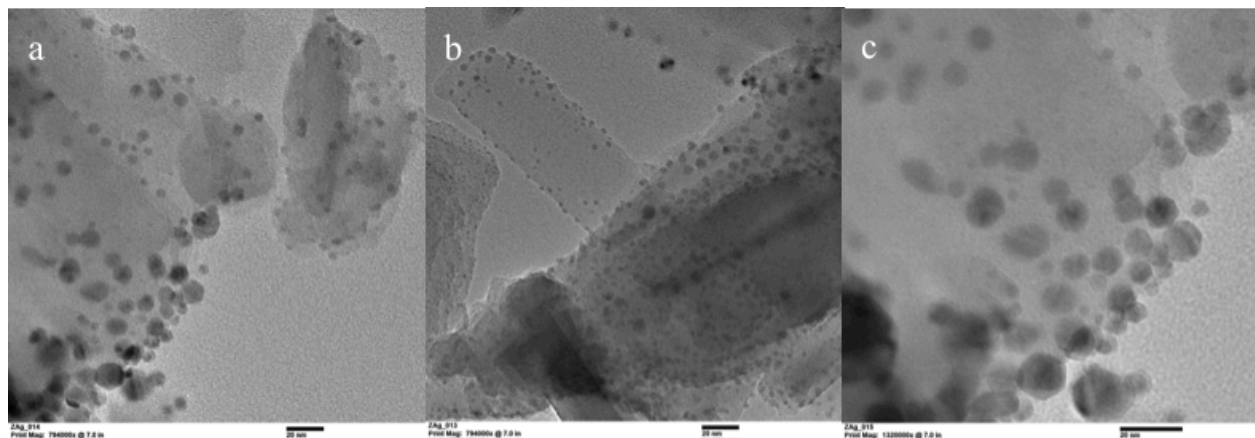


Figura 14. Imágenes de MET del material zeolítico ZAgiónica, a) X200,000 y b) X80,000.

### 6.2.4 Material zeolítico con plata reducida por extracto de toronja

Una vez que el material zeolítico intercambiado con plata (ZAgiónica), estuvo en contacto con el extracto de toronja, se llevó a cabo una reacción de reducción de la plata iónica a plata cero valente, formándose partículas a un nivel nanométrico (ZAgnpT). El tamaño de las nanopartículas se redujo considerablemente, observando en promedio tamaños de 1-5 nm, y se observó una distribución más homogénea de las nanopartículas, sobre la matriz cristalina de la zeolita (Figura 15 a y b). Se encontraron nanopartículas de

forma casi-esférica, con tendencia a generar caras planas de configuración hexagonal (Figura 15 c, d y e) (Khodashenas y Ghorbani, 2015). La ventaja del uso del extracto de toronja para reducir la plata, es la presencia de flavonoides, los cuales participan en dicha reducción. Además los fenoles, las proteínas y los carbohidratos presentes en el extracto, le proveen estabilidad a las nanopartículas (Ahmed et al., 2015). Este método de síntesis de nanopartículas se denomina verde ya que se basa, en que tanto el solvente como el agente reductor, no son tóxicos para los seres vivos.

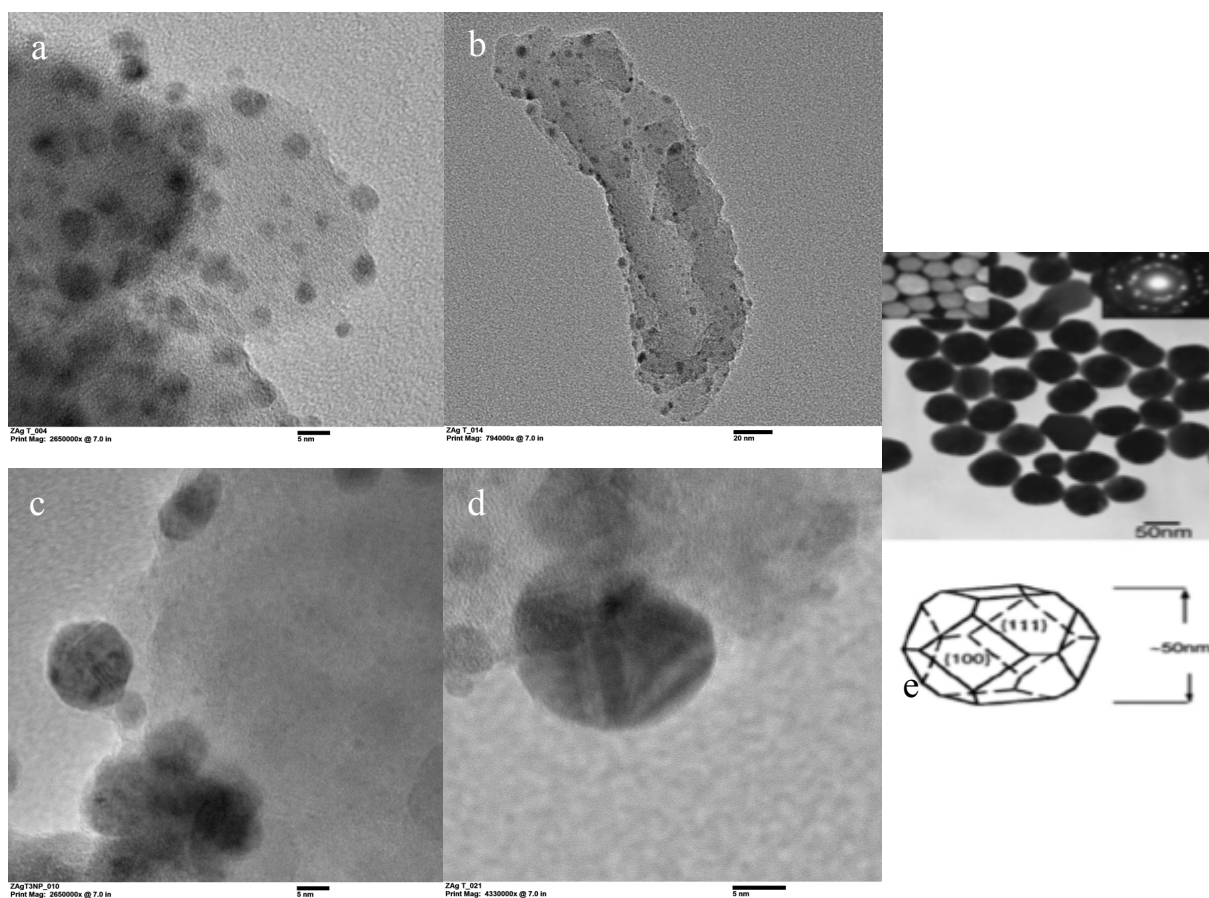


Figura 15. Imágenes MET del material zeolítico ZAgnpT, a) X400,000, b) X120,000, c) X400,000, d) X600,000 y e) Imagen de nanopartículas semi-esféricas.

### 6.2.5 Material zeolítico con plata reducida por irradiación con plasma

El material zeolítico con plata iónica que se trató con plasma (ZAgnpP) se observó mediante MET y se encontraron estructuras nanométricas sobre toda la red cristalina, distribuidas de manera uniforme y de tamaños de 1 a 20 nm (Figura 16 a). La forma de la partícula, como se observa en la Figura 16 b presenta un arreglo semiesférico de igual manera con tendencia a formar caras hexagonales. Esta distribución homogénea de tamaños y formas puede ser debida, a la eficiencia del plasma de interactuar con los iones plata de la roca zeolítica, sin causar modificaciones en la estructura cristalina. Bárdos et al. (2010) hicieron uso de plasma atmosférico y concluyeron que al estar en contacto con un compuesto, no presenta modificaciones significativas en su microestructura y solo promueve la redistribución de los átomos bajo la superficie.

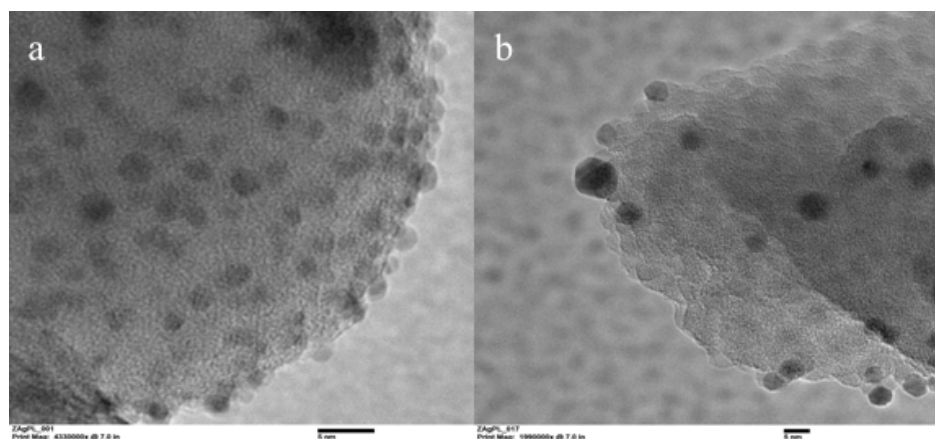


Figura 16. Imágenes MET del material zeolítico ZAgnpP, a) X600,000 y b) X300,000.

## 6.3 Difracción de Rayos-X (DRX)

### 6.3.1 Material zeolítico natural y sódico

Los patrones obtenidos mediante difracción de rayos-X de la Z y ZNa (Figura 17), muestran que los componentes minerales principales son la clinoptilolita y la mordenita. También se observó cuarzo, en menor cantidad. Esto se demuestra al comparar la intensidad y posición de las reflexiones de los patrones de difracción de rayos-X, las cuales concuerdan con aquellas tarjetas de la JCPDS (Joint Committee of Powder Diffraction

Standards), correspondientes a la clinoptilolita (JCPDS 25-1349) y mordenita (JCPDS 73-1490).

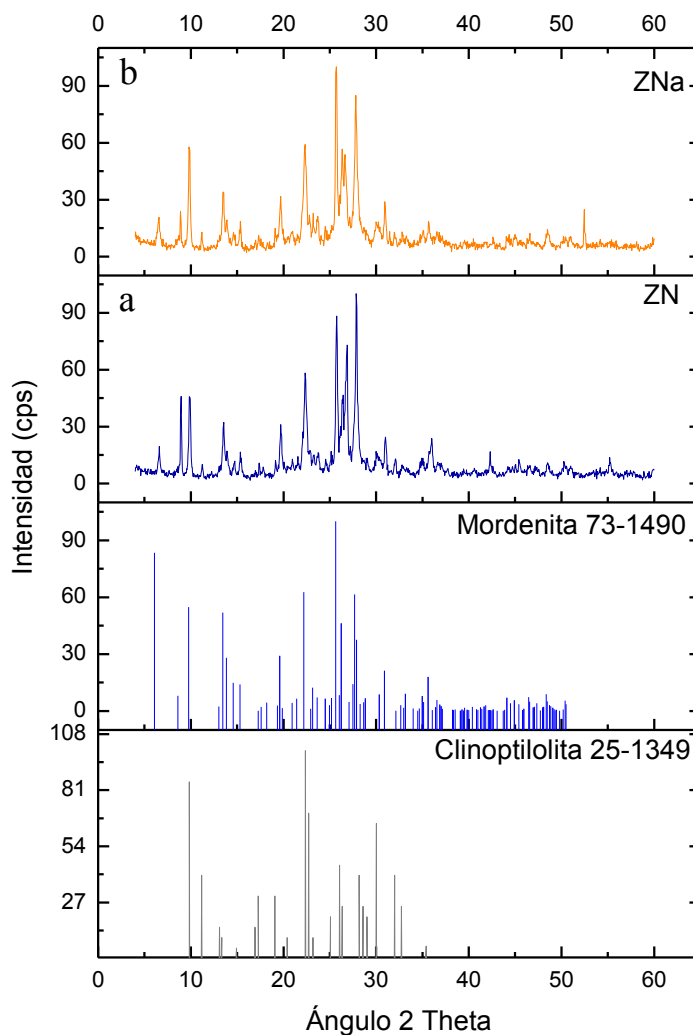


Figura 17. Patrón de difracción de rayos-X de la ZN a) y ZNa b) con las tarjetas de referencia clinoptilolita y mordenita.

### 6.3.2. Material zeolítico con plata (ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP)

El patrón de difracción de rayos-X de la ZNa se comparó con el de la ZAgiónica, presentando la misma coincidencia en las reflexiones, a pesar de estar acondicionada con

plata, no fue un factor para modificar la estructura cristalina del mineral zeolítico (Figura 18 b y c).

Asimismo al corroborar que la red cristalina no se colapsa después de la interacción con el extracto de toronja, se comparó el patrón de difracción de rayos-X del lote mayoritario ZAgnpT con los patrones de ZNa y ZAgiónica, encontrándose cambios en las intensidades de las reflexiones, pero no en la posición de las mismas, lo que supone la presencia de las diversas especies metálicas, en los diferentes sitios de intercambio de la red cristalina de la zeolita, derivado de los diferentes acondicionamientos (Figura 18 d).

La técnica de irradiación con plasma tiene un efecto inmediato sobre la superficie de la zeolita, eleva su temperatura; es por ello, que se llevó a cabo la comparación de los patrones de difracción de rayos-X para corroborar que el cambio de temperatura al que fue sometido el material zeolítico, no modificara su cristalinidad. Sin embargo, la temperatura que se alcanzó con el plasma para reducir la plata, no fue suficiente para provocar cambios significativos en la red (Figura 18 e).

Por último, se empleó la tarjeta de referencia de plata (JCPDS 089-3722), para comparar la intensidad de las reflexiones tanto de la ZAgnpP como las de ZAgnpT. Se observó una nueva reflexión en el ángulo a 40 grados 2 theta, que podría sugerir la presencia de la plata como tal. Sin embargo, este pico presentó un desfase de 2 grados 2 theta, comparado con el de la tarjeta antes mencionada (38 grados 2 theta).

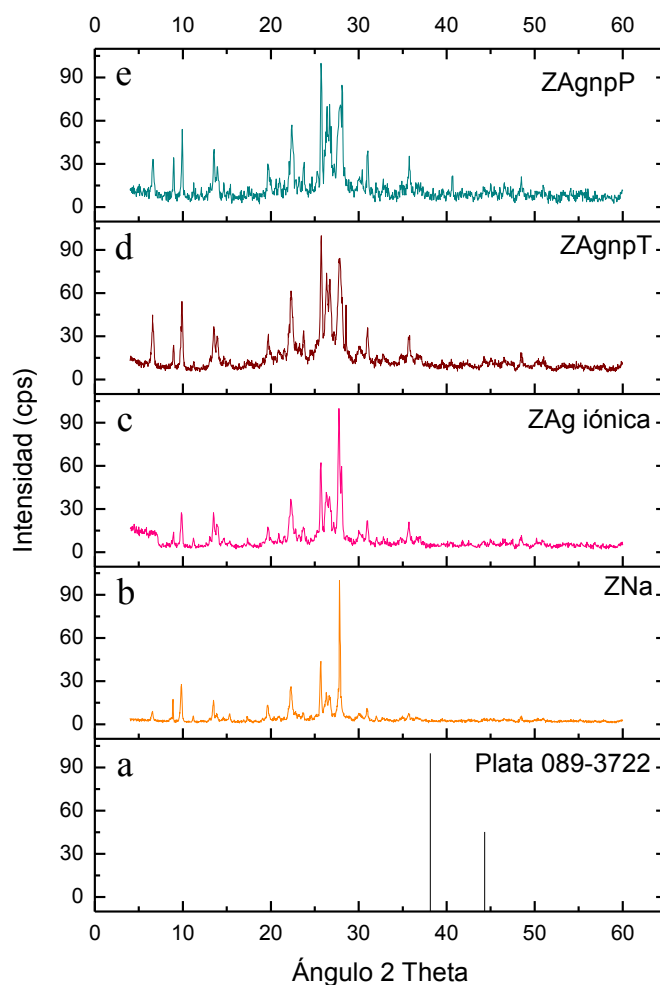


Figura 18. Patrones de difracción de rayos-X de plata 089-3722 a), ZNa b) y ZAgiónica c) comparados con los de ZAgnpT d), ZAgnpP e).

## 6.4 Espectroscopia de fotoelectrones inducidos por rayos-X (XPS)

### 6.4.1 Zeolita natural (ZN)

En la Figura 19, se presenta el espectro XPS de la muestra del material zeolítico natural, en donde se observan las señales de Na1s, Fe 2p, O1s, Si2p y Al2p. Los elementos principales de la zeolita fueron, oxígeno (58.89 %), silicio (25.91 %) y aluminio (6.36 %) y en menor proporción se encuentra el sodio (0.77 %), hierro (0.76 %) y titanio (0.72 %). Estos resultados complementan los obtenidos mediante la técnica EDS (Anexo 1, G).

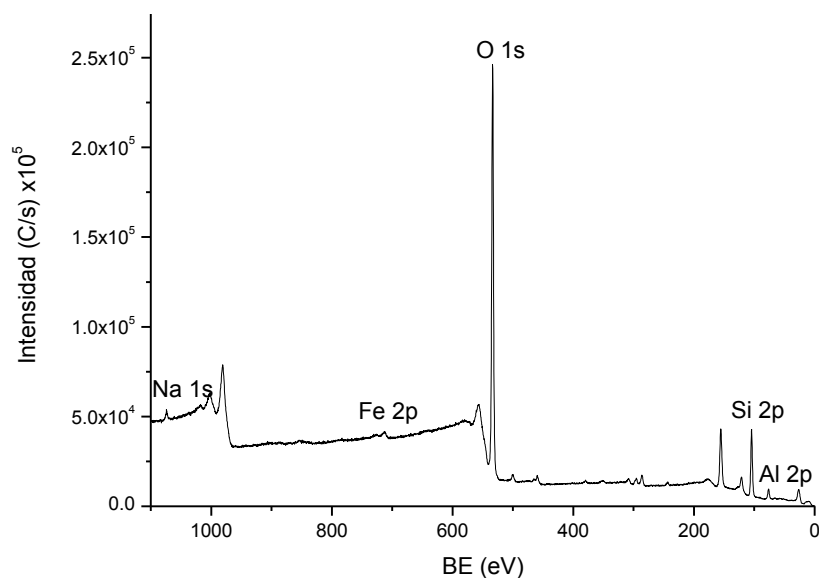


Figura 19. Espectro XPS de la zeolita natural (ZN) y los elementos principales que contiene.

En el análisis de estos espectros por XPS, cada pico de fotoemisión corresponde a un estado electrónico de los elementos que componen la muestra. Se logrará una mejora de la resolución espectral mediante la deconvolución de los picos, incorporando áreas bajo la curva, identificadas a partir de energías de enlace.

Se deconvolucionaron los picos de O 1s, Al 2p y Si 2p (Figura 20) y se obtuvieron los valores de energía de los componentes y estados de oxidación, que están presentes en el material zeolítico natural (Tabla 6). De acuerdo con Moulder et al. (1995); los enlaces de unión están reportados en las energías de enlace siguientes: el oxígeno (O1s) en 531.0 eV, el aluminio (Al2p) en 72.9 eV y el del silicio (Si2p) en 99.3 eV. En el presente trabajo, se identificaron energías de enlace las cuales se encuentran desfasadas por algunos electrones volts, debido probablemente, a que pueden encontrar en estados oxidados y a la naturaleza heterogénea del material zeolítico. Se identificaron los componentes de los materiales zeolíticos, de acuerdo con los espectros reportados en la literatura. Sin embargo, varios de ellos aún faltan por asignar.



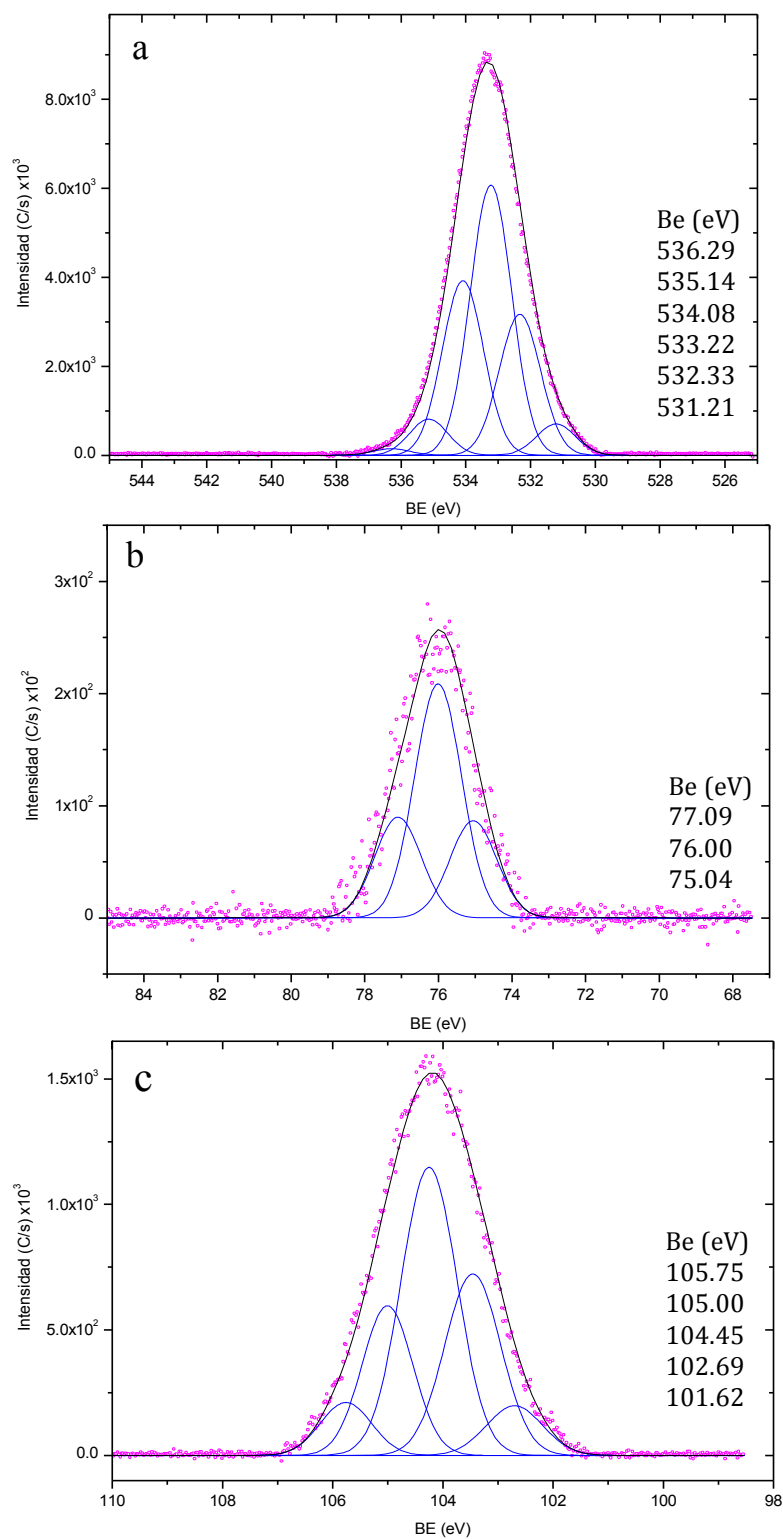


Figura 20. Deconvolución de las señales XPS de la ZN correspondientes al O 1s (a), Al 2p (b) y Si 2p (c) así como la energía asociada .

Tabla 6. Valores de la energía de enlace (Be en eV) de los picos que componen al espectro XPS del material zeolítico natural (ZN).

Elemento	Pico	FWHM*	Be (eV) Obtenido	Fórmula asignada	Be (eV) Reportada	Referencia
Oxígeno	1s	1.41005	531.21	Al(O)	531.2	Barr, 1991
		1.5	532.33	SiO <sub>2</sub> - alfa cristobalita	532.31	Wagner et al., 1982
		1.5	533.22	SiO <sub>2</sub>	533.2	Chenhall et al., 1985
		1.5	534.08	-	-	-
		1.39805	535.14	-	-	-
		1.33391	536.29	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	529.7	Chenhall et al., 1985
Aluminio	2p	1.5	75.04	-	-	-
		1.5	76.00	-	-	-
		1.5	77.09	-	-	-
Silicio	2p	1.2	101.62	-	-	-
		1.2	102.69	Silicatos	102.6	Chenhall et al., 1985
				SiO <sub>2</sub> -quarzo alfa	103.35	Barr, 1990
				SiO <sub>2</sub>	103.4	Barr, 1991
		1.2	103.45	alfa- SiO <sub>2</sub>	103.4	Chenhall et al., 1985
				SiO <sub>2</sub> - alfa cuarzo	103.45	Wagner et al., 1982
		1.2	104.24	-	-	-
		1.08891	105.00	-	-	-
		1.09353	105.75	-	-	-

\*FWHM corresponde al ancho máximo a la altura media del pico

#### 6.4.2 Zeolita sódica (ZNa)

El espectro XPS del material zeolítico sódico (Figura 21), muestra las señales de Na1s, Fe2p, O1s, Si2p y Al2p, que de igual manera que en la zeolita natural, se corrobora la composición elemental de la ZNa, con los datos obtenidos por EDS. Los elementos principales de la zeolita y su porcentaje atómico en la muestra fueron oxígeno (67.81 %), silicio (8.35 %), aluminio (1 %), hierro (3.98 %). Con respecto al valor del sodio, aumentó

el porcentaje atómico de 0.77 % que tenía la ZN a 11.74 % que contiene la ZNa. Por lo tanto, el acondicionamiento con sodio fue eficiente.

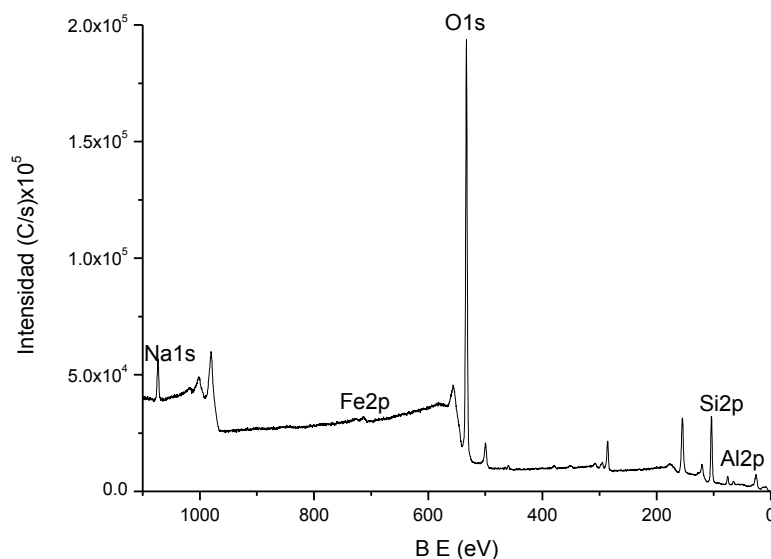


Figura 21. Espectro XPS de la zeolita sódica (ZNa) y los elementos principales que contiene.

Se realizaron las deconvoluciones de los picos obtenidos para O1s, Al2p y Si 2p, por ser los componentes primarios del material zeolítico sódico (ZNa) y se obtuvieron los valores de energía y estados de oxidación correspondientes (Figura 22) (Tabla 7). Como se mencionó anteriormente, los valores de las energías de cada señal, se desfasaron algunos electrones volts, debido a la naturaleza del material zeolítico y se identificaron los estados químicos presentes, con los ya reportados en la literatura. Algunos picos no fueron identificados, debido a que no hay ningún reporte sobre de ellos.

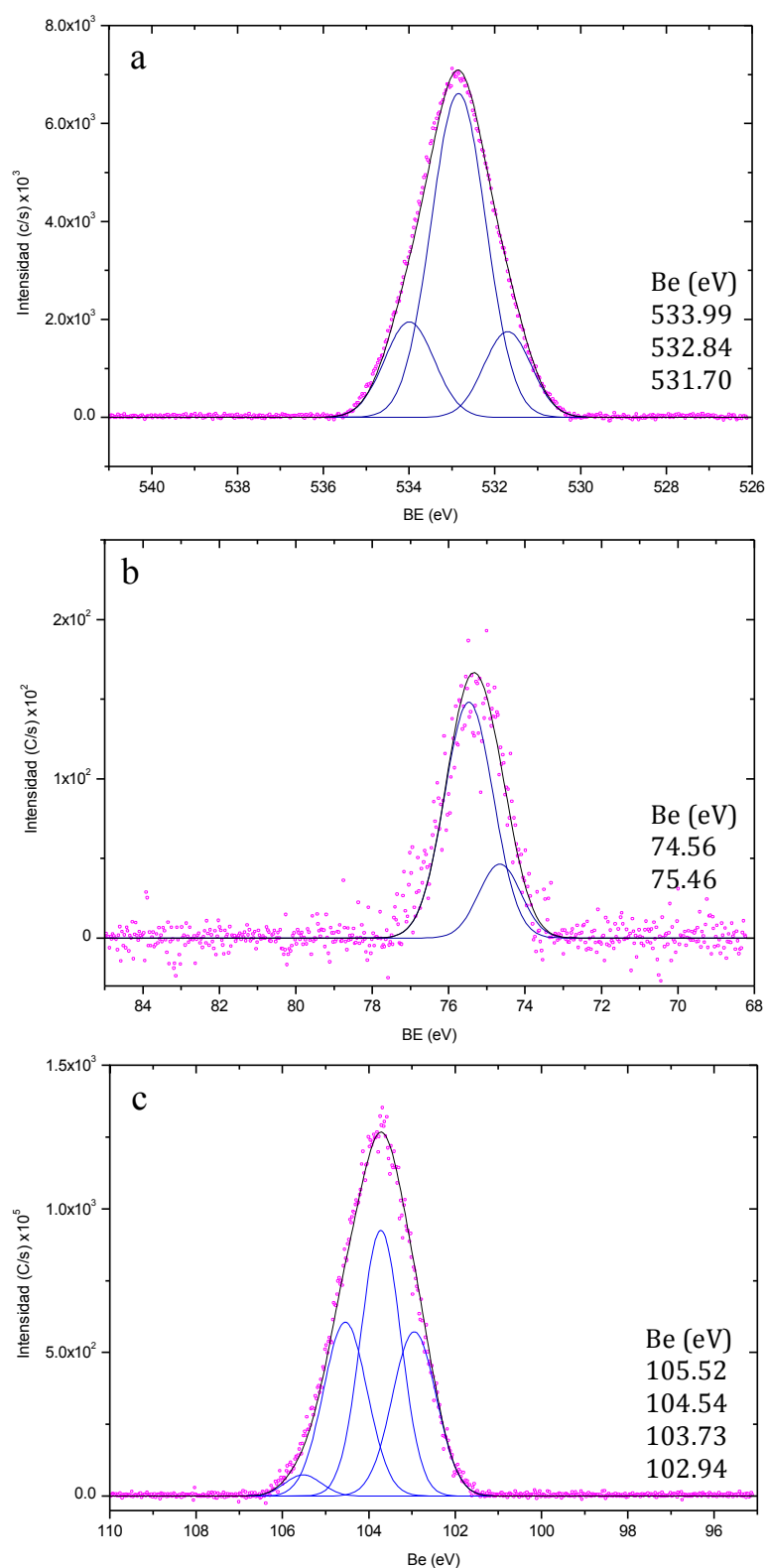


Figura 22. Deconvolución de las señales XPS de la ZNa correspondientes al O 1s (a), Al 2p (b) y Si 2p (c) así como la energía asociada.

Tabla 7. Valores de energía de enlace (Be en eV) de los picos que componen al espectro XPS del material zeolítico sódico (ZNa).

Elemento	Pico	FWHM*	Be (eV) Obtenido	Fórmula asignada	Be (eV) Reportada	Referencia
Oxígeno	1s	1.3	531.70	-	-	-
				Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	532.7	Nylund y Olefjord, 1994
		1.5	532.84	SiO <sub>2</sub>	532.65	Barr, 1990
		1.36244	533.99	-	-	Barr, 1991
Aluminio	2p			Estados metálicos y óxidos	73-75.8	Nylund y Olefjord, 1994
		1.3	74.65	Al (OH) <sub>3</sub> -gibbsite	74.63	Rotole y Sherwood, 1999
		1.5	75.46	Estados metálicos y óxidos	73-75.8	Nylund y Olefjord, 1994
Silicio	2p	1.2	102.94	-	-	-
		1.09455	103.72	-	-	-
		1.19578	104.54	-	-	-
		1	105.52	-	-	-

\*FWHM corresponde al ancho máximo a la altura media del pico

#### 6.4.3 Zeolita con plata iónica (ZAgiónica)

El espectro XPS del material ZAgiónica (Figura 23), muestra las señales de Na1s, Fe2p, O1s, Si2p, Al2p, y Ag3d<sub>5/2</sub>. Los porcentajes atómicos de los elementos que se encontraron fueron para el oxígeno (61.73%), para el silicio (26.79%) y para el aluminio (6.77 %) y en menor medida, para el hierro (0.77 %). Por otro lado, el sodio se redujo a 3.3% en este material, comparado con el encontrado para ZNa. El contenido de plata encontrado en este material fue del 0.52 %.

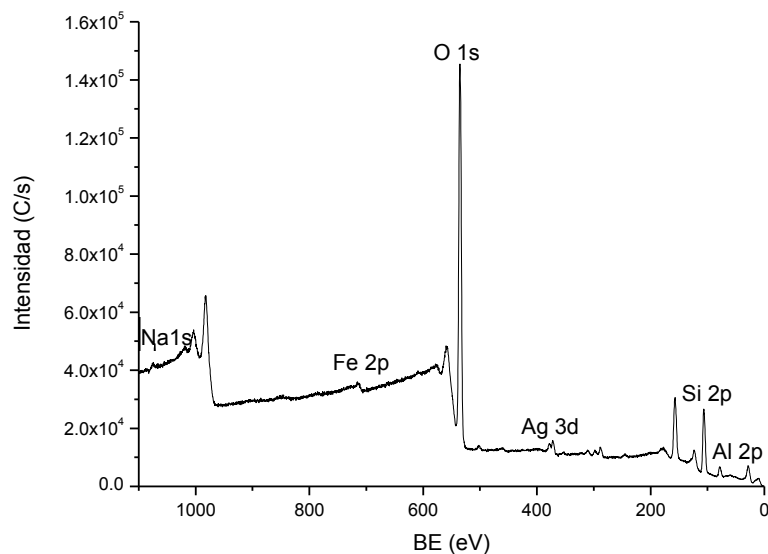


Figura 23. Espectro XPS de la zeolita con plata iónica (ZAgiónica) y los elementos principales que contiene.

Se realizaron las deconvoluciones de los picos obtenidos para O1s, y Ag3d<sub>5/2</sub> debido a que el oxígeno proporciona mayor información de los estados de oxidación del de la plata, como el elemento de interés (Figura 24). Se obtuvieron los valores de energía de los compuestos y los estados de oxidación de los componentes que están presentes en el material zeolítico. Para la plata iónica se consideró el valor de ancho de línea de 1.0, debido a que fue el valor en el que mejor se ajustaron los datos experimentales (Tabla 8). El valor de energía de la señal del oxígeno O1s (531.0 eV), como ya se había mencionado anteriormente, puede estar desfasada por algunos electrón volts, asimismo la de la plata Ag 3d<sub>5/2</sub> (368.3 eV). De acuerdo con lo reportado en la literatura, los estados de oxidación de la plata se presentan en compuestos de valencia mixta (AgO) y en una mezcla de AgO+Ag<sub>2</sub>O.

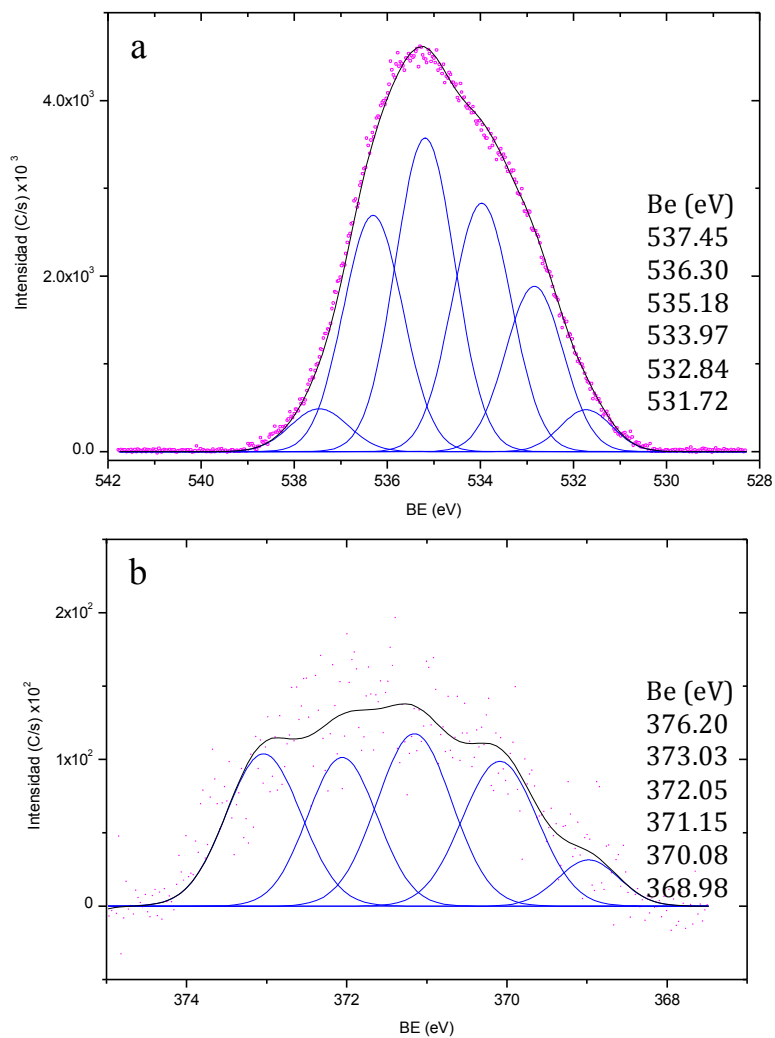


Figura 24. Deconvolución de las señales XPS de la ZAgiónica correspondientes al O 1s (a) y Ag 3d<sub>5/2</sub> (b) así como la energía asociada.

Tabla 8. Valores de energía de enlace (Be en eV) de los picos que componen al espectro XPS del material zeolítico con plata iónica (ZAgiónica).

Elemento	Pico	FWHM*	Be (eV) Obtenido	Fórmula asignada	Be (eV) Reportada	Referencia
Oxígeno	1s	1.3	531.72	-	-	-
		1.45903	532.84	SiO	532.8	Barr, 1991
		1.5	533.97	-	-	-
		1.5	535.18	-	-	-
		1.5	536.30	-	-	-
		1.45711	537.45	-	-	-
Plata	3d <sub>5/2</sub>	0.9	368.980	AgNO <sub>3</sub>	368.8	Ferraria et al., 2012
		1.1	370.08	-	-	-
				AgO	371.5	
		1.1	371.15	Mezcla AgO+Ag <sub>2</sub> O	371.4	Ferraria et al., 2012
		1.02233	372.05	-	-	-
		1.1	373.03	-	-	-
		0.94415	376.20	-	-	-

\*FWHM corresponde al ancho máximo a la altura media del pico

#### 6.4.4 Zeolita con plata reducida por extracto de toronja (ZAgnpT)

El material zeolítico con plata reducida por extracto de toronja, muestra en el espectro XPS (Figura 25) las señales de Na1s, Fe2p, O1s, Si2p, Al2p, y Ag3d<sub>5/2</sub>. El porcentaje atómico de los elementos principales de la zeolita fueron oxígeno (70.52 %), silicio (7.89 %) y aluminio (1.36 %). Con respecto a los elementos de menor concentración fueron para el hierro (6.48 %) y el sodio (3.32 %). La concentración de plata que se encontró en este material correspondió al 4.41 %.



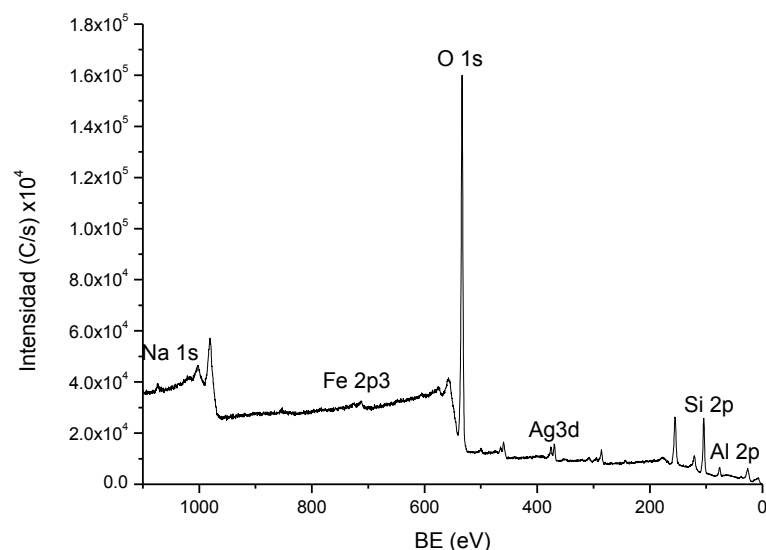


Figura 25. Espectro XPS de la zeolita con plata reducida por extracto de toronja (ZAgnpT) y los elementos principales que contiene.

Se presentan a continuación, las deconvoluciones de los picos espectros obtenidos para O1s, y Ag3d<sub>5/2</sub> debido a que son los picos de interés (Figura 26). Se obtuvieron los valores de energía y estados de oxidación de los componentes que están presentes en el material zeolítico con plata reducida por extracto de toronja, considerando un ancho de línea de 1.0, debido a que proporcionó el mejor ajuste de los resultados experimentales (Tabla 9). Los picos principales de cada uno de estos elementos se presentaron desfasados con respecto a los reportados en la literatura, esto puede deberse a los estados de oxidación en el que se encuentran los elementos. Algunos de los valores obtenidos, no se pudieron asignar a ningún compuesto o especie química. Sin embargo, se identificaron aquéllos estados de oxidación, al compararlos con los reportados en fuentes de información. Con ello, se corroboró la reducción de plata de Ag<sup>+1</sup> a Ag<sup>0</sup>, empleando extracto de toronja, además se generan otros compuestos como los de valencia mixta. El comportamiento de los microorganismos frente a los materiales zeolíticos está en función del estado de oxidación de la plata.

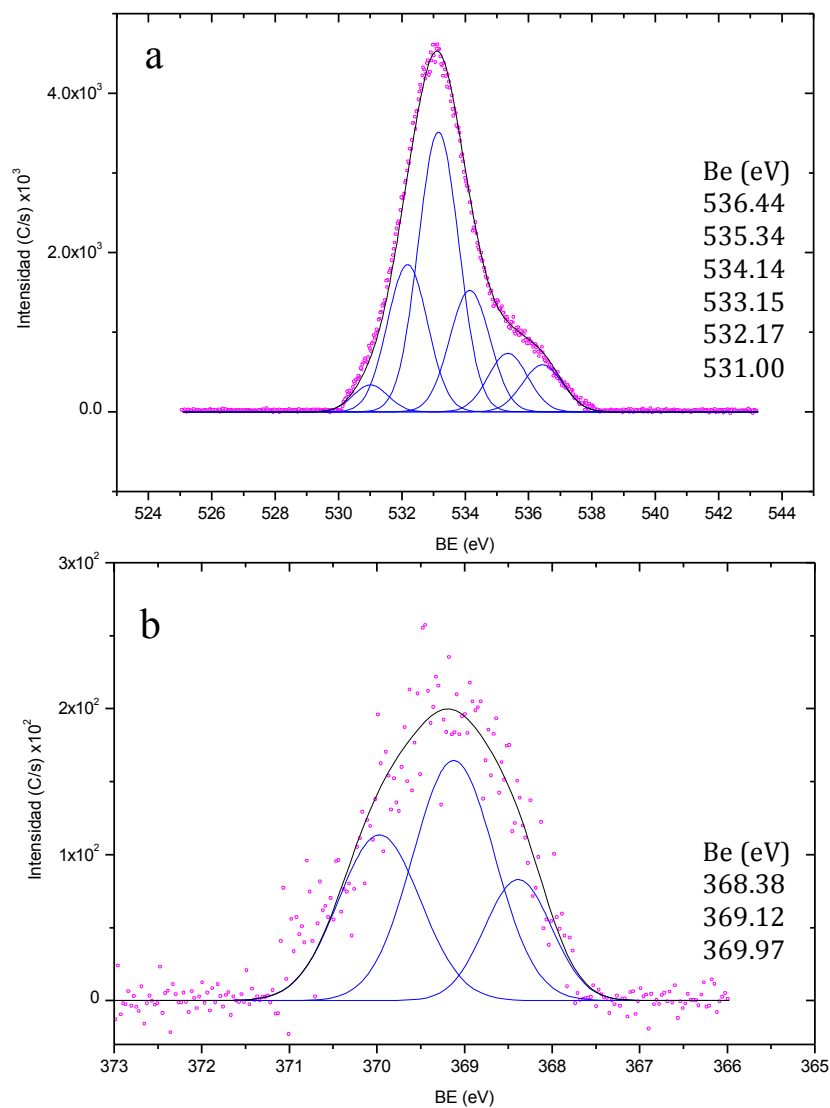


Figura 26. Deconvolución de las señales XPS de la ZAgnpT correspondientes al O 1s (a) y Ag 3d<sub>5/2</sub> (b) así como la energía asociada.

Tabla 9. Valores de energía de enlace (Be en eV) de los picos que componen al espectro XPS del material zeolítico con plata reducida por extracto de toronja (ZAgnpT).

Elemento	Pico	FWHM*	Be (eV) Obtenido	Fórmula asignada	Be (eV) Reportada	Referencia
Oxígeno	1s					
		1.30002	531.00	Silicatos	531.4	Chenhall et al., 1985
		1.49164	532.17	alfa SiO <sub>2</sub>	532.2	Chenhall et al., 1985
		1.5	533.15	SiO <sub>2</sub> gel	533.2	Chenhall et al., 1985
		1.4895	534.14	-	-	-
		1.47156	535.34	-	-	-
		1.5	536.44	-	-	-
Plata	3d <sub>5/2</sub>					
		0.9	368.38	Ag	368.3	Ferraria et al., 2012
		1.09744	369.12	-	-	-
		1.1	369.97	AgO	369.4	Ferraria et al., 2012

\*FWHM corresponde al ancho máximo a la altura media del pico

#### 6.4.5 Zeolita con plata reducida por irradiación con plasma (ZAgnpP)

En el espectro XPS del material zeolítico con plata reducida por irradiación con plasma (Figura 27), se aprecian las señales de Na1s, Fe2p, O1s, Si2p y Al 2p, y Ag3d<sub>5/2</sub>. El porcentaje atómico de los elementos principales de la zeolita fueron oxígeno (61.73 %), silicio (26.76 %) y aluminio (5.41 %). Los elementos de menor concentración tuvieron porcentajes para el hierro del 0.35 % y para el sodio del 0.27 %. La plata reducida se presentó en un porcentaje del 1.1 %.

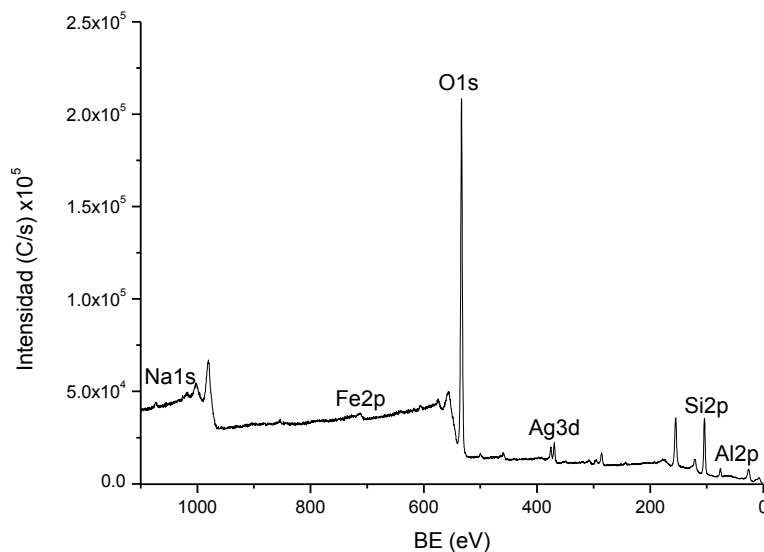


Figura 27. Espectro XPS de la zeolita con plata reducida por irradiación con plasma y los elementos principales que contiene.

A continuación se presentan las deconvoluciones realizadas de los picos correspondientes a O1s, y Ag3d<sub>5/2</sub>, obtenidos del espectro XPS de la ZAgnpP, que son los elementos de interés para el análisis de la información. En la Tabla 10, se muestran los valores de energía y los estados de oxidación. Las líneas principales de cada elemento se presentaron desfasados por algunos electrón volts y esto depende de los estados de oxidación en los que se encuentran en el material zeolítico. En comparación con el material zeolítico con plata iónica y con el plata reducida por extracto de toronja, los datos experimentales obtenidos para la ZAgnpP se ajustaron de mejor manera, a los dos valores de ancho de línea que se consideraron para tal fin (0.64 y 1.00) (Figura 28 b y c). Las energías obtenidas se compararon con aquéllas reportadas en la literatura y se logró identificar una relación Ag/Ag, lo que indica la reducción de la plata de Ag<sup>+1</sup> a Ag<sup>0</sup>, además se identificaron compuestos de valencia mixta (AgO), entre otros. El proceso de reducción de plata mediante la irradiación de la ZAgiónica con el plasma es efectivo, además de que genera una amplia cantidad de compuestos con diversos estados de oxidación de este elemento, fundamentales durante el proceso de inhibición microbiana.

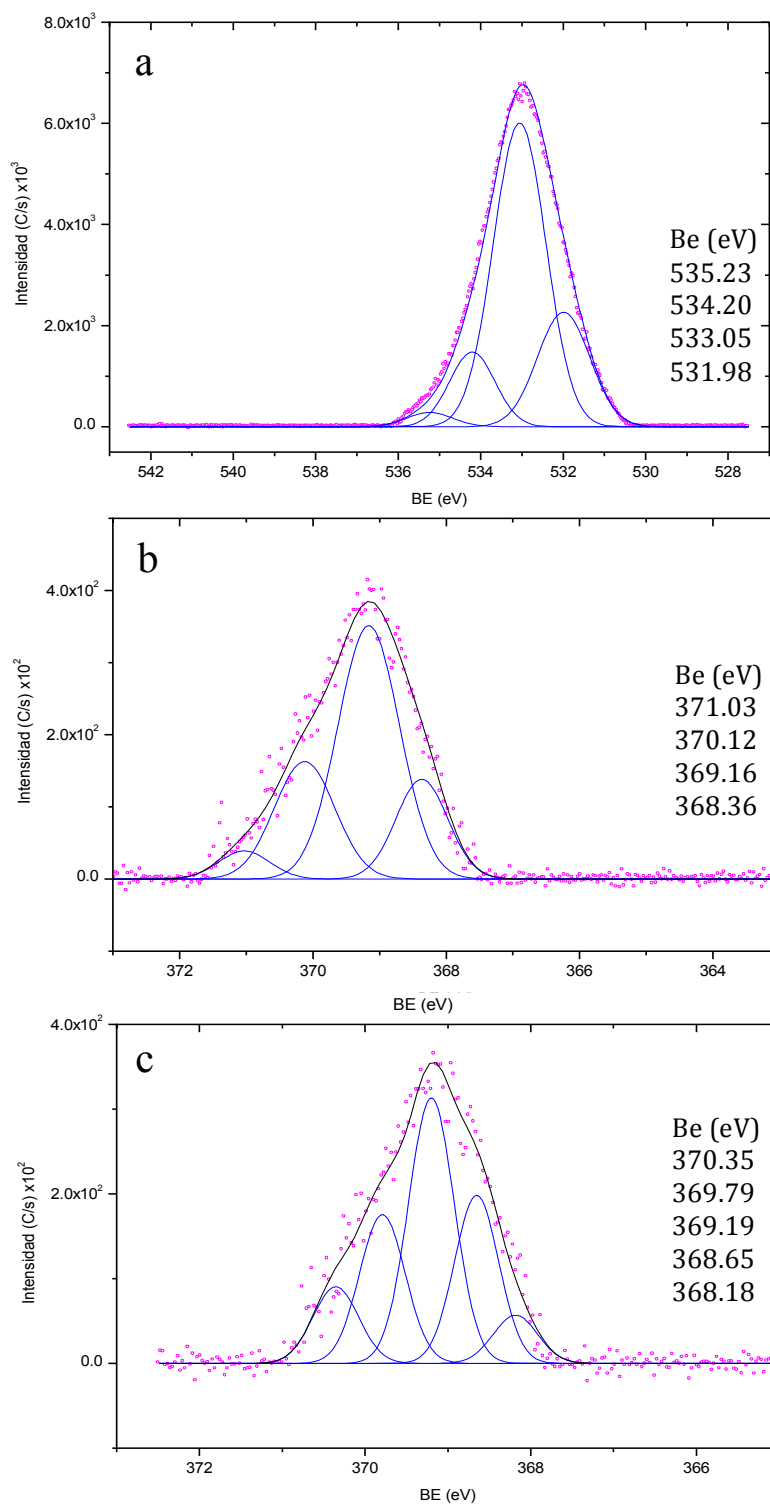


Figura 28. Deconvolución de las señales XPS de la ZAgnpP correspondiente al O 1s (a), Ag 3d<sub>5/2</sub> (FWHM 1) (b) y Ag 3d<sub>5/2</sub> (FWHM 0.64) (c) así como la energía asociada.

Tabla 10. Valores de energía de enlace (Be en eV) de los picos que componen al espectro XPS del material zeolítico con plata reducida por irradiación con plasma (ZAgnpP).

Elemento	Pico	FWHM*	Be (eV) Obtenido	Fórmula asignada	Be (eV) Reportada	Referencia
Oxígeno	1s					
		1.5	531.98	Silicatos	531.4	Chenhall et al., 1985
		1.5	533.05	alfa SiO <sub>2</sub>	532.2	Chenhall et al., 1985
		1.3	534.20	SiO <sub>2</sub> gel	533.2	Chenhall et al., 1985
		1.3	535.23	-	-	-
Plata	3d <sub>5/2</sub>	0.91694	368.36	Ag/Ag	368.3	Ferraria et al., 2012
		1.08952	369.16	Mezcla AgO+Ag <sub>2</sub> O	369.2	Ferraria et al., 2012
		1.06618	370.12	Mezcla AgO+Ag <sub>2</sub> O	369.2	Ferraria et al., 2012
		0.9	371.03	AgO	371.5	Ferraria et al., 2012
Plata	3d <sub>5/2</sub>	0.63	368.18	-	-	-
		0.63	368.65	Ag <sub>2</sub> O	368.6	Ferraria et al., 2012
		0.65	369.19	Mezcla AgO+Ag <sub>2</sub> O	369.2	Ferraria et al., 2012
		0.65	369.79	AgO/Ag	369.4	Ferraria et al., 2012
					371.4	
		0.65	370.35	AgO Mezcla AgO+Ag <sub>2</sub> O		Ferraria et al., 2012
					371.5	

\*FWHM corresponde al ancho máximo a la altura media del pico

## 6.5 Constantes cinéticas de desinfección para los microorganismos de manera individual en agua desionizada y desorción de $\text{Ag}^+$

Para establecer las cinéticas de desinfección, los resultados experimentales se ajustaron al modelo matemático de Chick, considerando que la concentración del agente desinfectante es constante durante el proceso de desinfección y que la velocidad de decaimiento celular sigue una ley cinética de primer orden (Chick, 1908), como ya se mencionó en la sección 1.2.1. A continuación se muestra el tiempo de inhibición total ( $h$ ), la concentración máxima de plata para dicho tiempo, el valor  $k$  ( $\text{h}^{-1}$ ) de la constante cinética de Chick y el valor  $R^2$  o coeficiente de determinación entre 0 y 1, que muestra hasta qué punto los valores experimentales se acercan a los calculados mediante el modelo.

$$N = N_0 e^{-k t} \quad [1]$$

Sin embargo, no todos los resultados obtenidos de los experimentos de desinfección, obedecen al modelo de Chick, ya que se observa en algunos casos una fase de latencia durante la desinfección y debido a ello, se llevó a cabo una modificación de dicho modelo.

El término “latencia en desinfección” es empleado, para definir un periodo de desarrollo de mecanismos de protección de las células al entorno actual y está caracterizado por una reprogramación metabólica, que le permita a la célula prosperar en ese medio y resistir el desinfectante durante un cierto momento. Esta fase de latencia ( $\text{lag}$ ) está determinada por factores como la especie, parámetros del ambiente (presencia del desinfectante) y el tiempo de escasez de nutrientes al que a estado expuesto el microorganismo. Las células se adaptan al medio y logran resistir al desinfectante durante el tiempo que dura la latencia. Cuando el mecanismo de defensa es vencido, se presenta el efecto del  $\text{Ag}$ . Sin embargo el observar un periodo de tiempo como fase de latencia en un proceso de desinfección, implica que se requiere mayor tiempo de contacto para poder observar un decremento significativo en el número de células de los microorganismos.

Para los casos donde se presento la fase de latencia, se propone la modificación del modelo de Chick simple [1], que incluye latencia [ec. 5 y 6].

$$N = N_0 e^{-k(t-t_{lat})} \quad \text{para } t \geq t_{lat} \quad [5]$$

$$N = N_0 \quad \text{para } t < t_{lat} \quad [6]$$

Donde  $N$  es el número de organismos al tiempo  $t$ ,  $N_0$  es la concentración inicial de microorganismos,  $k$  es la constante de velocidad de inactivación y el valor de  $t_{lat}$  es el tiempo de duración de la fase de latencia.

Con respecto a la desorción de la plata que es un proceso paralelo a la desinfección, los datos se ajustaron tanto al modelo de difusión parabólica (Higuchi), como a la Korsmeyer- Peppas. En la modificación generalizada propuesta por ambos modelos, se describe un proceso de difusión simple que sigue la primera Ley de Fick.

#### ***6.5.1 Efecto del material zeolítico sódico sobre E. coli***

El sodio es considerado un micronutriente para los microorganismos, por ello el material ZNa fue empleado como control experimental, para considerar la reducción abiótica y compararla con la actividad microbicida de las muestras zeolíticas con plata. Ya que *Escherichia coli* tiene la capacidad de vivir en diferentes medios con riqueza nutricional diversa (How et al., 2012), el porcentaje de sobrevivencia más bajo de este microorganismo que estuvo en contacto con ZNa en agua desionizada fue de 87% (Figura 29), por lo que el material zeolítico sódico no tiene efecto negativo significativo en su crecimiento. Además, la figura 29 muestra el comportamiento de los materiales desinfectantes en comparación con ZNa.



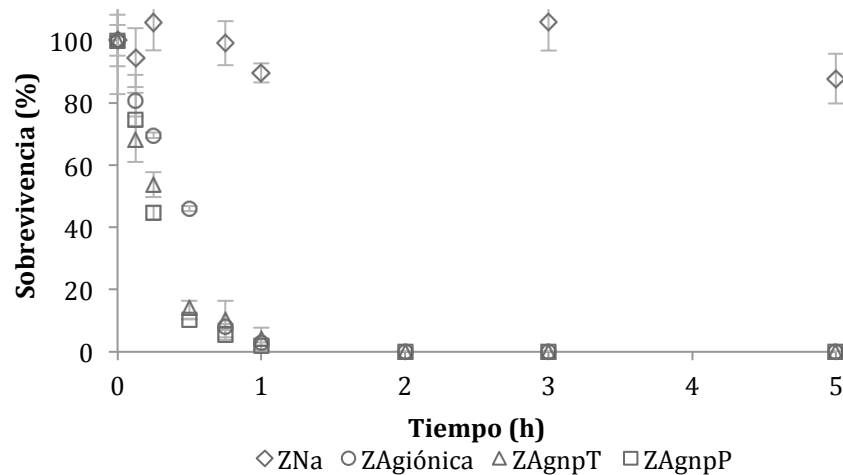


Figura 29. Supervivencia de *E. coli* en de agua desionizada (100mL) frente a ZNa, ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP (20 mg).

### 6.5.2 Cinéticas de desinfección para *E. coli* en agua desionizada y desorción de $\text{Ag}^+$ de los materiales zeolíticos

#### 6.5.2.1 Cinéticas de desinfección

*Escherichia coli* no presenta fase de latencia frente a ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP. En la Tabla 11, se muestran las constantes de decaimiento celular de Chick no modificado. La mortalidad fue mayor, cuando se empleó ZAgnpP con una  $k(\text{h}^{-1})$  de  $4.017 \text{ h}^{-1}$  y un tiempo de inhibición total de 1 hora (Figura 30). La ZAgiónica ( $k=3.188 \text{ h}^{-1}$ ) (ver gráfico en Anexo 3, A) y la ZAgnpT ( $k=3.155 \text{ h}^{-1}$ ), presentaron comportamientos de desinfección similares y con un tiempo de inhibición total de 2 horas. Das et al. (2015), refieren que la actividad antimicrobiana de las nanopartículas involucra la generación de especies de oxígeno reactivas de manera intracelular, lo que lleva a la célula a su lisis.

La constante cinética de desinfección para *E. coli* sigue el orden:

$$k_{\text{ZAgnpP}} > k_{\text{ZAgnpT}} > k_{\text{ZAgiónica}}.$$

Tabla 11. Parámetros del proceso de desinfección para *E. coli* en agua desionizada frente a los materiales zeolíticos ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP.

Material Zeolítico	Inhibición total $t_f(\text{h})$	Constante cinética de desinfección (modelo de Chick o Chick modificado)			$[\text{Ag}]$ al $t_f(\text{h})$  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	Constante cinética de desorción <sup>a</sup> <i>Higuchi</i> , <sup>b</sup> <i>Korsmeyer-Peppas</i>		
		$k(\text{h}^{-1})$	$t_{lat}(\text{h})$	$R^2$		$k_d(h^{-\frac{1}{2}})^a$ ; $k_d(h^{-n})^b$	$R^2$	n
<b><u>Microorganismo</u></b>								
<b><i>Escherichia coli</i></b>								
ZAgiónica	2	3.155	*	0.926	0.008±0.003	0.0013 <sup>b</sup>	0.011	0.011
ZAgnpT	2	3.188	*	0.975	0.013±0.001	0.002 <sup>b</sup>	0.548	0.127
ZAgnpP	1	4.017	*	0.987	0.010±0.004	0.0013 <sup>b</sup>	0.431	0.233

\* $t_{lat}$  - No se observó periodo de latencia.

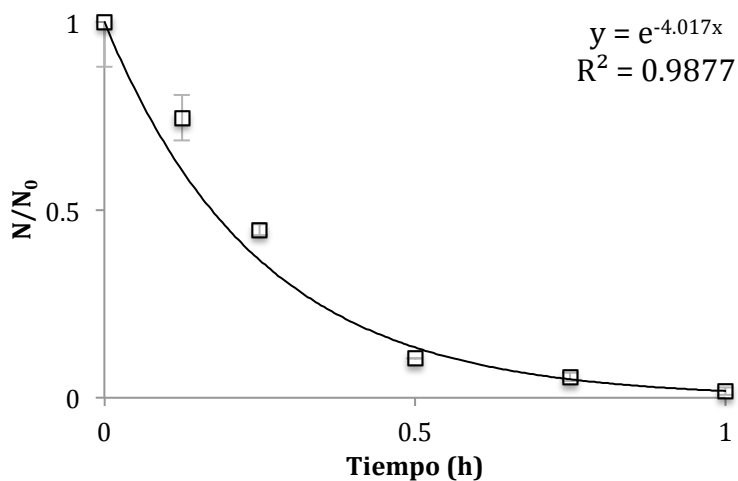


Figura 30. Cinética de desinfección para *E. coli* en agua desionizada (100 mL) frente a ZAgnpP (20 mg).

#### 6.5.2.2 Cinéticas de desorción

La Figura 31 muestra la concentración de la plata iónica desorbida al medio acuoso por el material zeolítico ZAgnpP con respecto al tiempo. A mayor tiempo de contacto, mayor concentración de plata desorbida siendo el máximo de  $0.010 \pm 0.001 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  a las 5 h de inhibición total promoviendo el efecto desinfectante contra *E. coli*. La concentración de plata desorbida por los materiales zeolíticos (ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP) no superó el

límite máximo permisible de  $[Ag]$   $0.05 \text{ mg/L}^{-1}$  (Anexo 2, A). Debido a que el material que se redujo con plasma es el más rico en nanopartículas y estados de oxidación diversa.

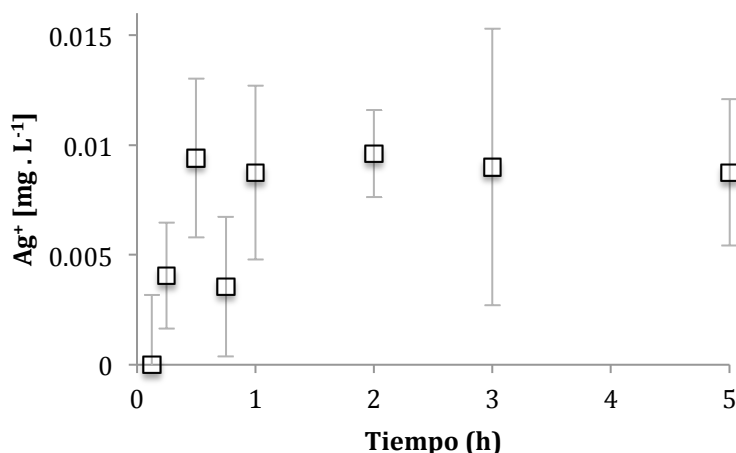


Figura 31. Desorción de plata por el material ZAgnpP (20 mg) en agua desionizada (100 mL) con respecto al tiempo y *E. coli* como microorganismo de prueba.

Por otro lado en la Tabla 11, se presentan los valores para las constantes cinéticas de desorción, obtenidas del ajuste de los datos experimentales a los modelos de Higuchi  $k(h^{-\frac{1}{2}})$  ó *Korsmeyer- Peppas*  $k(h^{-n})$ , según fuera el caso. Para la obtención los parámetros de desinfección se emplearon hojas de cálculo Excel, para realizar una regresión lineal.

En la Figura 32 se observa el proceso de difusión de la plata por los materiales zeolíticos, que estuvieron en contacto con *E. coli*. Para este caso la difusión de ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP se ajustaron al modelo de *Korsmeyer-Peppas* con valores de  $n$  (exponente de difusión) menores a 0.5. Para ZAgnpT se determinó un valor de  $n=0.127$  ( $k_d=0.002$ ), así como ZAgnpP  $n=0.233$ , ( $k_d=0.0013$ ). Por otro lado ZAgiónica  $n=0.011$  ( $k_d=0.0013$ ), también se ajustó a este modelo. En los tres casos, implica un proceso de difusión en capa fija en el líquido. Los valores de la concentración máxima de plata liberada se encuentra en el intervalo de  $0.008 \pm 0.003 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  a  $0.013 \pm 0.001 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . Siendo la que liberó la mayor concentración ZAgnpT y la menor ZAgiónica.

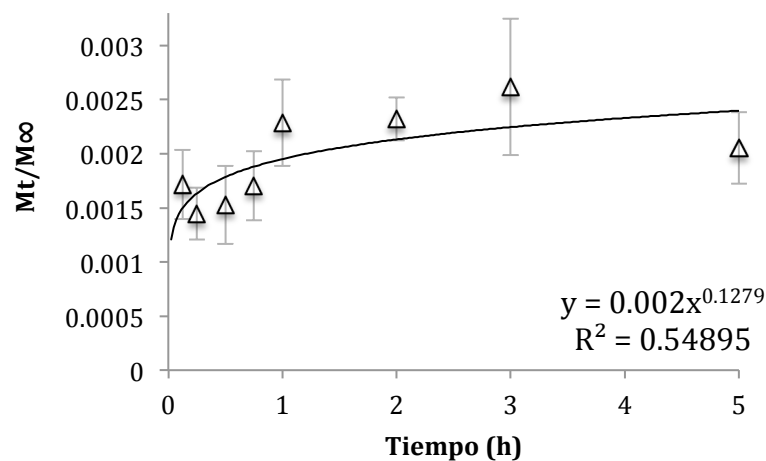


Figura 32. Modelo de *Korsmeyer-Peppas* aplicado a la desorción de plata por el material ZAgnpT (20 mg) considerando a *E. coli* en agua desionizada (100mL) como microorganismo de prueba.

#### 6.5.3 Efecto del material zeolítico sódico sobre *E. faecalis*

Se compararon los porcentajes de sobrevivencia de *E. faecalis* que estuvieron en contacto con 20 mg de ZNa y se observó que el porcentaje de sobrevivencia llegó a un 80 %; esto pudo deberse a que el organismo se enfrentó a un estrés osmótico con las sales liberadas en el medio. Sin embargo, el material zeolítico no atenta contra la sobrevivencia del microorganismo Gram negativo (Figura 33).

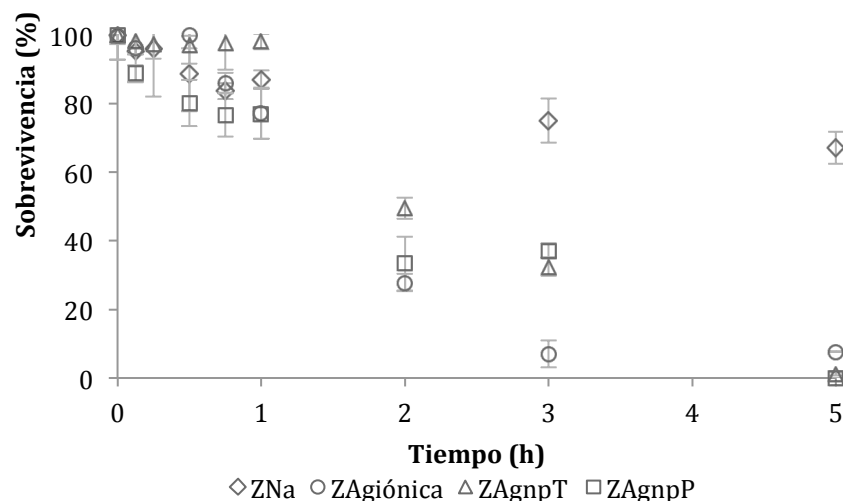


Figura 33. Sobrevivencia de *E. faecalis* en agua desionizada (100 mL) frente a ZNa, ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP (20mg).

#### 6.5.4 Cinéticas de desinfección para *E. faecalis* en agua desionizada y desorción de $Ag^+$ de los materiales zeolíticos

##### 6.5.4.1 Cinéticas de desinfección

ZAgiónica y ZAgnpT (Figura 34), en contacto con *E. faecalis* presentan tiempos de latencia ( $t_{lat}$ ) por lo que se empleó el modelo de Chick modificado para conocer las cinéticas de desinfección, en el caso de ZAgiónica ( $k=0.65\text{ h}^{-1}$ ) con un  $t_{lat}$  de 0.5 h, quien no logró llevar al microorganismo a una desinfección total dentro de las 5 horas de tratamiento y para ZAgnpT ( $k=1.11\text{ h}^{-1}$ ) presento un  $t_{lat}$  de 1 h, con 5 h de contacto (Tabla 12). Estos tiempos de fase de latencia incrementan el tiempo de desinfección requerido para la inactivación total. Por otro lado ZAgnP (Figura 34), muestra un valor de la constante de Chick no modificada de  $0.837\text{ h}^{-1}$  y un tiempo de contacto para la inhibición total de 5 horas. Las diferentes especies químicas de plata presentes en este material, pueden interactuar con los grupos tiol de las proteínas de la célula, inactivándolas (Rai et al., 2009).

El tiempo necesario para la inactivación total para *E. faecalis* por los materiales zeolíticos presentan el orden siguiente:

$$t_f \text{ZAgiónica} > t_f \text{ZAgnpT} = t_f \text{ZAgnpP}$$

Tabla 12. Parámetros del proceso de desinfección para *E. faecalis* en agua desionizada frente a los materiales zeolíticos ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP.

Material Zeolítico	Inhibición total <b>t<sub>f</sub>(h)</b>	Constante cinética de desinfección (modelo de Chick o Chick modificado)			<b>[Ag] al t<sub>f</sub>(h)</b>  <b>mg·L<sup>-1</sup></b>	Constante cinética de desorción <sup>a</sup> <i>Higuchi</i> , <sup>b</sup> <i>Korsmeyer- Peppas</i>		
		<b>k(h<sup>-1</sup>)</b>	<b>t<sub>lat</sub>(h)</b>	<b>R<sup>2</sup></b>		<b>k<sub>d</sub>(h<sup>-1/2</sup>)<sup>a</sup>; k<sub>d</sub>(h<sup>-n</sup>)<sup>b</sup></b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>n</b>
<b>Microorganismo</b>								
<i>Enterococcus faecalis</i>								
ZAgiónica	>5	0.65	0.5	0.843	0.09±0.06	0.007 <sup>b</sup>	0.508	0.227
ZAgnpT	5	1.11	1	0.929	0.11±0.02	0.007 <sup>a</sup>	0.733	^
ZAgnpP	5	0.837	*	0.938	0.10±0.05	0.008 <sup>a</sup>	0.847	^

\* $t_{lat}$  - No se observó periodo de latencia    ^ n=0.5

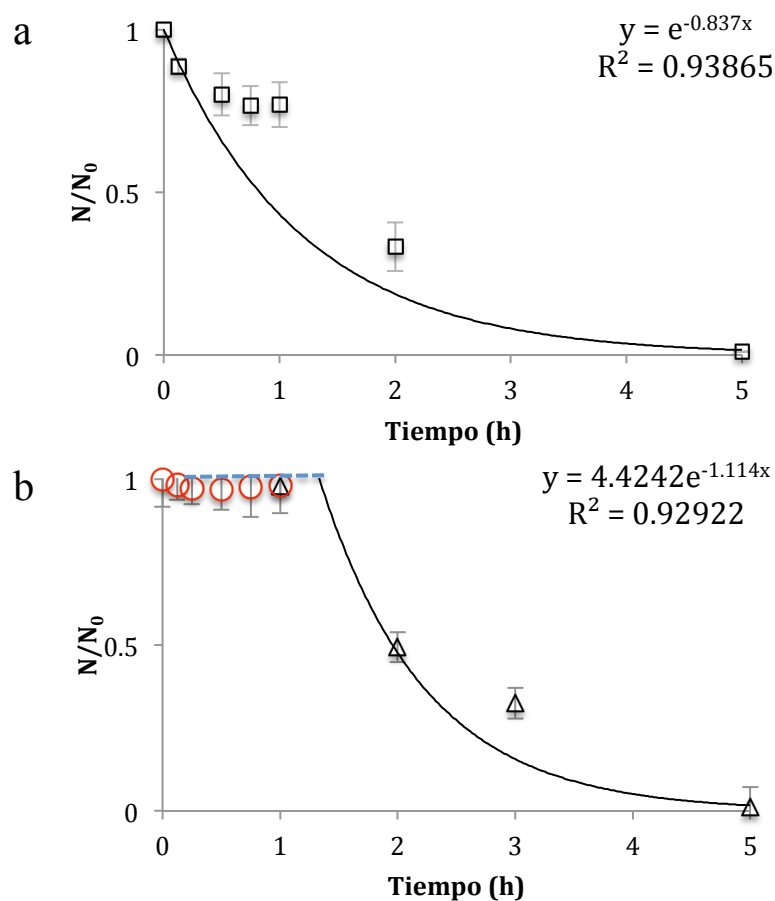


Figura 34. Cinética de desinfección de *E. faecalis* en agua desionizada (100 mL) frente a ZAgnpP (a) y ZAgnpT (b) (20 mg). ○ y ----  $t_{lat}$  (fase de latencia). △ Inicio del proceso cinético de desinfección.

#### 6.5.4.2 Cinéticas de desorción

En la Figura 35 se observa la desorción de la plata a partir del material zeolítico con plata reducida por plasma con respecto al tiempo, llegando a una concentración promedio de  $0.10 \pm 0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , promoviendo eficientemente el proceso de desinfección. La difusión de la plata por los materiales zeolíticos (ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP) (Anexo 2, B) está por encima del límite máximo permisible por la NOM-041-SSA1-1993, considerando las fluctuaciones estadísticas ( $0.05 \text{ mgAg} \cdot \text{L}^{-1}$ ). La concentración de plata iónica liberada al

medio acuoso al tiempo máximo de desinfección, presenta el siguiente orden:  $Ag_{ZAgnpT} > Ag_{ZAgnpP} > Ag_{ZAgiónica}$ .

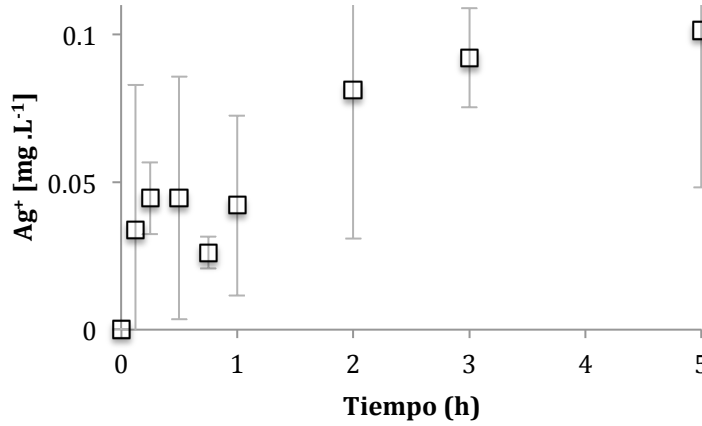


Figura 35. Desorción de plata por el material ZAgnpP (20mg) en agua desionizada (100 mL) con respecto al tiempo y *E. faecalis* como microorganismo de prueba.

Asimismo la cinética de difusión de la plata por el material zeolítico ZAgnpP ( $0.10 \pm 0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) presenta una constante cinética de  $0.0083 \text{ h}^{-\frac{1}{2}}$  ajustado al modelo de Higuchi donde la difusión se lleva a cabo solo en el líquido de manera simple (Figura 36). La desorción de la plata por ZAgnpT ( $0.11 \pm 0.02 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) para este organismo también se ajusta a este modelo con una constante cinética de  $0.007 \text{ h}^{-\frac{1}{2}}$ . Por otro lado para ZAgiónica ( $0.9 \pm 0.06 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) los datos se ajustaron al modelo *Korsmeyer- Peppas* con una constante cinética de  $0.007 \text{ h}^{-n}$  y un valor de  $n$  de 0.22, el cual indica un proceso simultáneo de difusión en el líquido y en el sólido (Tabla 12). Las constantes cinéticas de desorción de  $Ag^+$  para *E. faecalis* por los materiales zeolíticos presenta el orden siguiente:  $k_H \mathbf{ZAgnpP} > k_H \mathbf{ZAgnpT}$ .



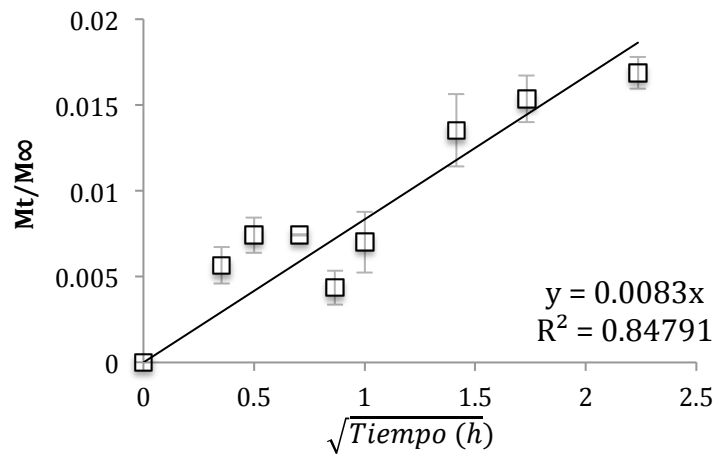


Figura 36. Modelo de Higuchi aplicado a la desorción de la plata por el material ZAgnpP (20 mg) considerando a *E. faecalis* en agua desionizada (100 mL) como microorganismo de prueba.

#### 6.5.5 Efecto del material zeolítico sódico sobre *C. albicans*

*C. albicans* en presencia del material zeolítico sódico ZNa presentó un porcentaje de sobrevivencia mínimo de 83%. De acuerdo a Kinclova-Zimmermannova y Sychrová, 2007, *C. albicans* cuenta con transportadores de membrana que regulan la concentración intracelular de sales, por lo que el efecto que tiene la concentración de Na difundido al medio por el material zeolítico sódico no tienen un efecto negativo considerable en este microorganismo (Figura 37).

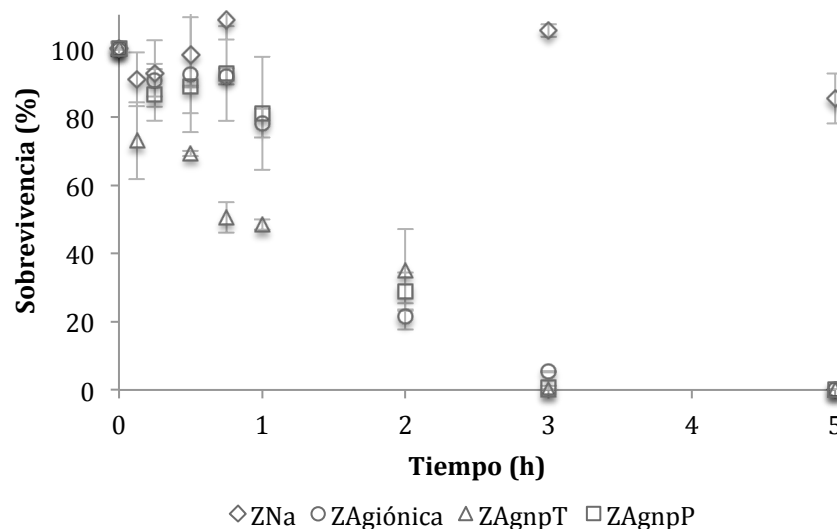


Figura 37. Sobrevivencia de *C. albicans* en agua desionizada (100 mL) frente a ZNa, ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP (20 mg).

#### 6.5.6 Cinéticas de desinfección para *C. albicans* en agua desionizada y desorción de $Ag^+$ de los materiales zeolíticos

##### 6.5.6.1 Cinéticas de desinfección

*C. albicans* mostró una constante de decaimiento celular (modelo de Chick no modificado) de  $1.171 \text{ h}^{-1}$  con ZAgnpT y un tiempo de desinfección total de 3 horas (Figura 38a). La presencia de plata metálica y de los compuestos de valencia mixta de plata en este material zeolítico, tienen efecto directo en su inhibición, ya que no presentó fase de latencia con este material. Por otro lado, las constantes cinéticas de desinfección para ZAgiónica ( $k = 1.288 \text{ h}^{-1}$ ) y ZAgnpP ( $k = 2.199 \text{ h}^{-1}$ ) (Figura 38b), fueron determinadas con el modelo de Chick modificado, ya que mostraron una inhibición total en 5 h de contacto, pero con  $t_{lat}$  de 0.75 h, para ambos materiales zeolíticos; lo que implica mayor tiempo de contacto en estos sistemas antes de alcanzar una desactivación total.

El tiempo total de inactivación para *C. albicans* por los materiales zeolíticos presenta el orden siguiente:

$$t_f \text{ZAgiónica} > t_f \text{ZAgnpP} = t_f \text{ZAgnpT}.$$

Tabla 13. Parámetros del proceso de desinfección para *C. albicans* en agua desionizada frente a los materiales zeolíticos ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP.

Material Zeolítico	Inhibición total $t_f(\text{h})$	Constante cinética de desinfección (modelo de Chick o Chick modificado)			$[\text{Ag}]$ al $t_f(\text{h})$ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	Constante cinética de desorción <sup>a</sup> <i>Higuchi</i> , <sup>b</sup> <i>Korsmeyer- Peppas</i>		
		$k(\text{h}^{-1})$	$t_{lat}(\text{h})$	$R^2$		$k_d(h^{-\frac{1}{2}})^a$ ; $k_d(h^{-n})^b$	$R^2$	n
<b>Microorganismo</b>								
<i>Candida albicans</i>								
ZAgiónica	5	1.288	0.75	0.996	0.15±0.01	0.017 <sup>b</sup>	0.024	0.030
ZAgnpT	3	1.171	*	0.786	0.12±0.07	0.018 <sup>b</sup>	0.859	0.201
ZAgnpP	3	2.199	0.75	0.891	0.16±0.01	0.015 <sup>a</sup>	0.114	^

\* $t_{lat}$  - No se observó periodo de latencia    ^  $n=0.5$

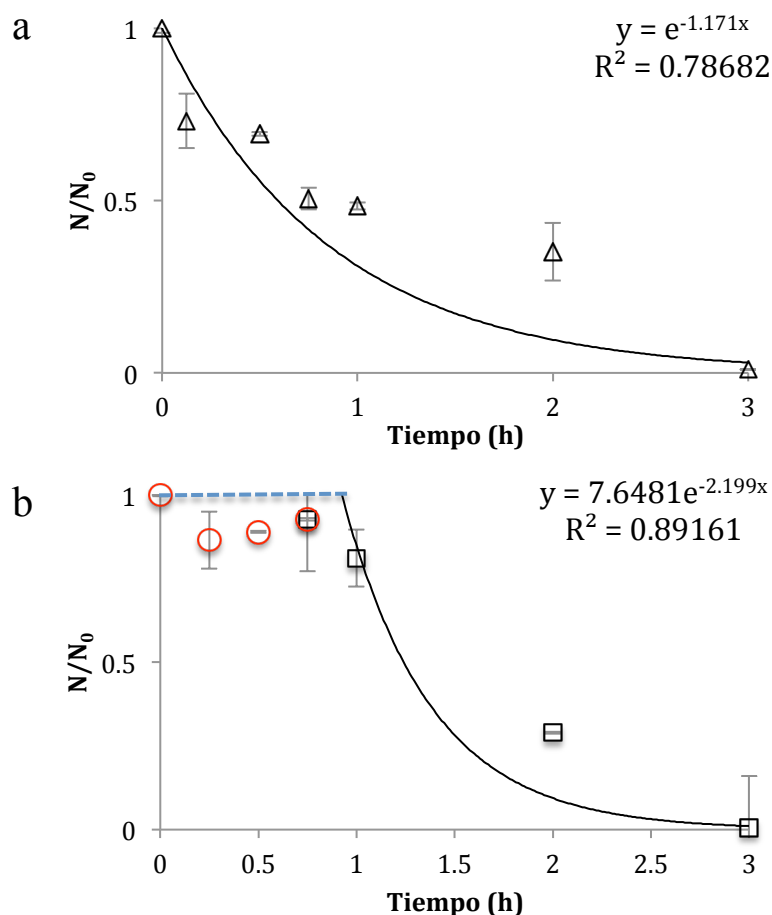


Figura 38. Cinética de desinfección de *C. albicans* en agua desionizada (100 mL) frente a ZAgnpT (a) y ZAgnpP (b) (20 mg). ○ y ----  $t_{lat}$  (fase de latencia). ◻ Inicio del proceso cinético de desinfección.

#### 6.5.6.2 Cinéticas de desorción

La desorción de la plata a partir del material zeolítico de plata reducida con toronja, aumentó con respecto al tiempo, llegando a una concentración máxima de  $0.15 \pm 0.001 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , promoviendo de manera eficiente el proceso de desinfección de *C. albicans* (Figura 39). En el Anexo 2(C), se muestra la difusión de la plata por los materiales zeolíticos (ZAgiónica, ZAgnpT y ZAnpP). La concentración de plata iónica liberada al medio acuoso al tiempo máximo de desinfección, presenta el siguiente orden:  $\text{Ag}_{\text{ZAgnpP}} > \text{Ag}_{\text{ZAgiónica}} > \text{Ag}_{\text{ZAgnpT}}$ .

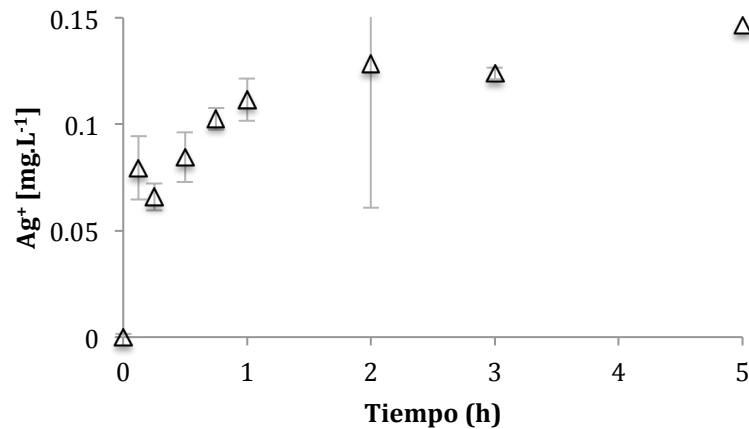


Figura 39. Desorción de plata por el material ZAgnpT (20 mg) en agua desionizada (100 mL) con respecto al tiempo y *C. albicans* como microorganismo de prueba.

En la Figura 40 se muestra el ajuste de los datos experimentales al modelo cinético de *Korsmeyer- Peppas* para la desorción de la plata ( $0.12 \pm 0.07 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) de la ZAgnpT, presentando una constante cinética de desorción de  $0.0187 \text{ h}^{-n}$ . La ZAgiónica ( $k_d = 0.017 \text{ h}^{-n}$ ) ( $0.15 \pm 0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) también se ajustó a este modelo, en este caso el valor de  $n = 0.030$  indica un proceso simultáneo de difusión en el líquido y en el sólido. Sin embargo, la desorción de la Ag por ZAgnpP ( $k_d = 0.015 \text{ h}^{-\frac{1}{2}}$ ) ( $0.16 \pm 0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), ajustó al modelo de Higuchi, que considera una difusión de tipo Fick (Tabla 13). De acuerdo con Rai et al., 2009, los iones plata se unen a la célula eucariota afectando principalmente la replicación del ADN.

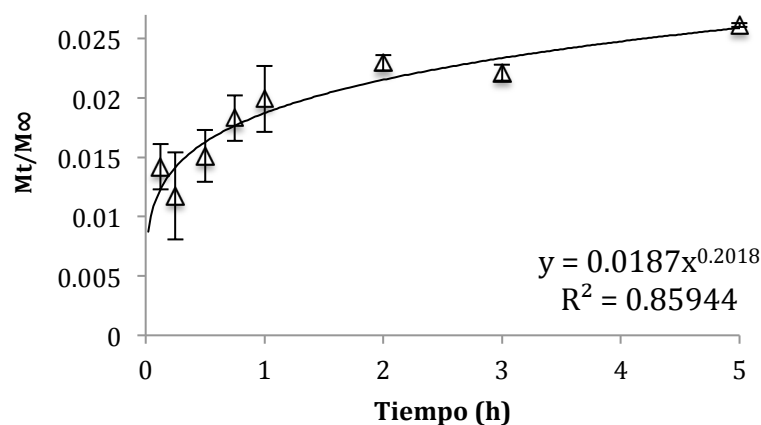


Figura 40. Modelo de *Korsmeyer- Peppas* aplicado a la desorción de la plata por el material ZAgnpT (20 mg) en agua desionizada (100 mL) con respecto al tiempo considerando a *C. albicans* como microorganismo de prueba.

## 6.6 Constantes cinéticas de desinfección para el consorcio *E. coli* - *E. faecalis* - *C. albicans* en agua desionizada y desorción de $\text{Ag}^+$

### 6.6.1 Efecto del material zeolítico sódico sobre el consorcio

El concepto de consorcio microbiano implica una asociación natural de dos o más poblaciones microbianas, las cuales actúan en conjunto y se benefician de manera individual unos de otros. Pueden organizarse en biofilms, que favorecen las interacciones entre los microorganismos. Sin embargo, es muy poco probable que los microorganismos coincidan en tiempo y espacio, debido a la concentración empleada en el medio en el que se lleva a cabo el proceso de desinfección.

La sobrevivencia de los organismos en consorcio (*E. coli*- *E. faecalis*- *C. albicans*) frente al material zeolítico sódico en agua desionizada se mantuvo constante. Aunque hubo una aparente inactivación inicial de hasta 50%, sin embargo, la sobrevivencia se mantuvo en este valor, al final de las 6 horas de contacto (Figura 41). A pesar de la reducción de los porcentajes de sobrevivencia, hubo tendencia de reactivación a las 5 h. Por lo tanto, se puede considerar que el material zeolítico sódico no es eficiente como desinfectante y al

estar interactuando los tres organismos en conjunto muestran una posible adaptación al medio.

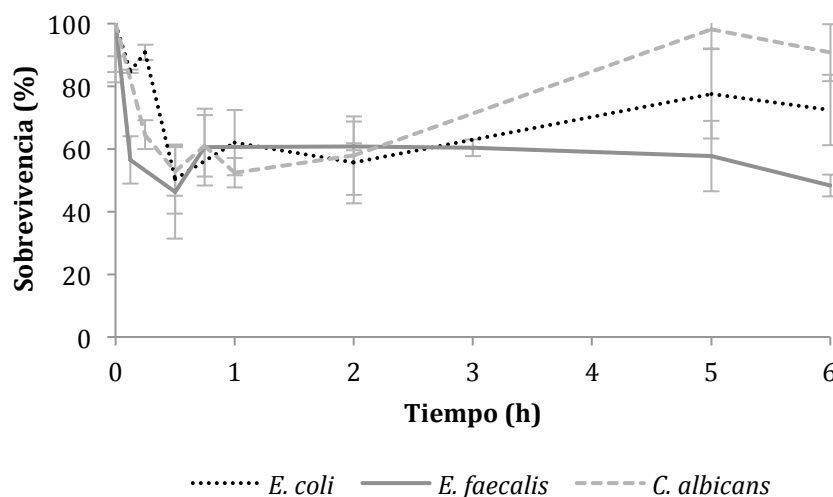


Figura 41. Sobrevivencia del consorcio *E. coli*- *E. faecalis*- *C. albicans* en agua desionizada (100 mL) frente a ZNa (20 mg).

#### 6.6.2 Cinéticas de desinfección para el consorcio en agua desionizada y desorción de la $Ag^+$ de los materiales zeolíticos

##### 6.6.2.1 Cinéticas de desinfección

Una vez que se corroboró que los microorganismos pueden coexistir en un mismo medio acuoso, se llevaron a cabo las pruebas de desinfección con los materiales zeolíticos de plata iónica y los de plata reducida, observando que en la mayoría de los casos, los valores de las constantes cinéticas de desinfección, de tiempo de inhibición total y  $t_{lat}$  son mayores para los microorganismos evaluados en conjunto (Tabla 14), que aquéllos de manera individual. Nuevamente *E. coli* no presentó  $t_{lat}$  al ser evaluada en consorcio, mientras que *E. faecalis* y *C. albicans* si mostraron tiempos de latencia considerables. Lo anterior podría implicar que cuando se lleva a cabo un proceso de inhibición microbiana en consorcio, los microorganismos se ven favorecidos por la presencia de otras especies microbianas, requiriendo tiempos de desinfección considerables y presentando tiempos de

la fase de latencia también mayores, con respecto a los obtenidos para los procesos de desinfección, de manera individual.

Diversos autores han observado, que los microorganismos pueden cohabitar en diferentes combinaciones: El género *Candida*- bacterias (Gram positivas y negativas) (O' Donnell et al., 2015); *E. faecalis*- *C. albicans*, en algún punto la relación entre ellos se puede volver antagónica, debido a las características de cada microorganismo, (Bachtar et al., 2016); *E. coli*- *C. albicans* cohabitan, sin embargo en alguna etapa de la formación del biofilm, *C. albicans* es inhibida ya sea por el número de células o por la presencia de lipopolisacaridos propios de *E. coli* (Bandara et al., 2009).

En la Figura 42 se muestra el comportamiento de los 3 organismos en consorcio (Gram positiva-Gram negativa-Levadura) en agua desionizada, frente a los 3 materiales zeolíticos acondicionados con plata y/o reducidos con extracto de toronja y plasma (ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP).

Tabla 14. Parámetros del proceso de desinfección para el consorcio de microorganismos en agua desionizada frente a los materiales zeolíticos ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP.

Material Zeolítico	Inhibición total $t_r$ (h)	Constante cinética de desinfección (modelo de Chick o Chick modificado)			[Ag] al $t_r$ (h)  mg·L <sup>-1</sup>	Constante cinética de desorción <sup>a</sup> Higuchi, <sup>b</sup> Korsmeyer- Peppas		
		$k$ (h <sup>-1</sup> )	$t_{lat}$ (h)	R <sup>2</sup>		$k_d(h^{-\frac{1}{2}})^a$ ; $k_d(h^{-n})^b$	R <sup>2</sup>	n
<b>Microorganismo</b>								
<b><i>Escherichia coli</i></b>								
ZAgiónica	2	4.805	*	0.884	0.92±0.01	ZAgiónica (consorcio)		
ZAgnpT	2	5.216	*	0.973	0.04±0.01	0.0149 <sup>b</sup>	0.0001	0.003
ZAgnpP	2	4.411	*	0.879	0.04±0.02			
<b><i>Enterococcus faecalis</i></b>								
ZAgiónica	6	1.094	2	0.813	0.15±0.01	ZAgnpT (consorcio)		
ZAgnpT	5	1.036	1	0.923	0.11±0.01	0.0099 <sup>b</sup>	0.5384	0.196
ZAgnpP	6	0.682	0.75	0.764	0.07±0.01			
<b><i>Candida albicans</i></b>								
ZAgiónica	6	1.294	1	0.852	0.15±0.01	ZAgnpP (consorcio)		
ZAgnpT	5	1.559	2	0.981	0.06±0.02	0.0093 <sup>b</sup>	0.3994	0.124
ZAgnpP	5	1.887	0.5	0.940	0.06±0.01			

\* $t_{lat}$  - No se observó periodo de latencia ^  $n=0.5$



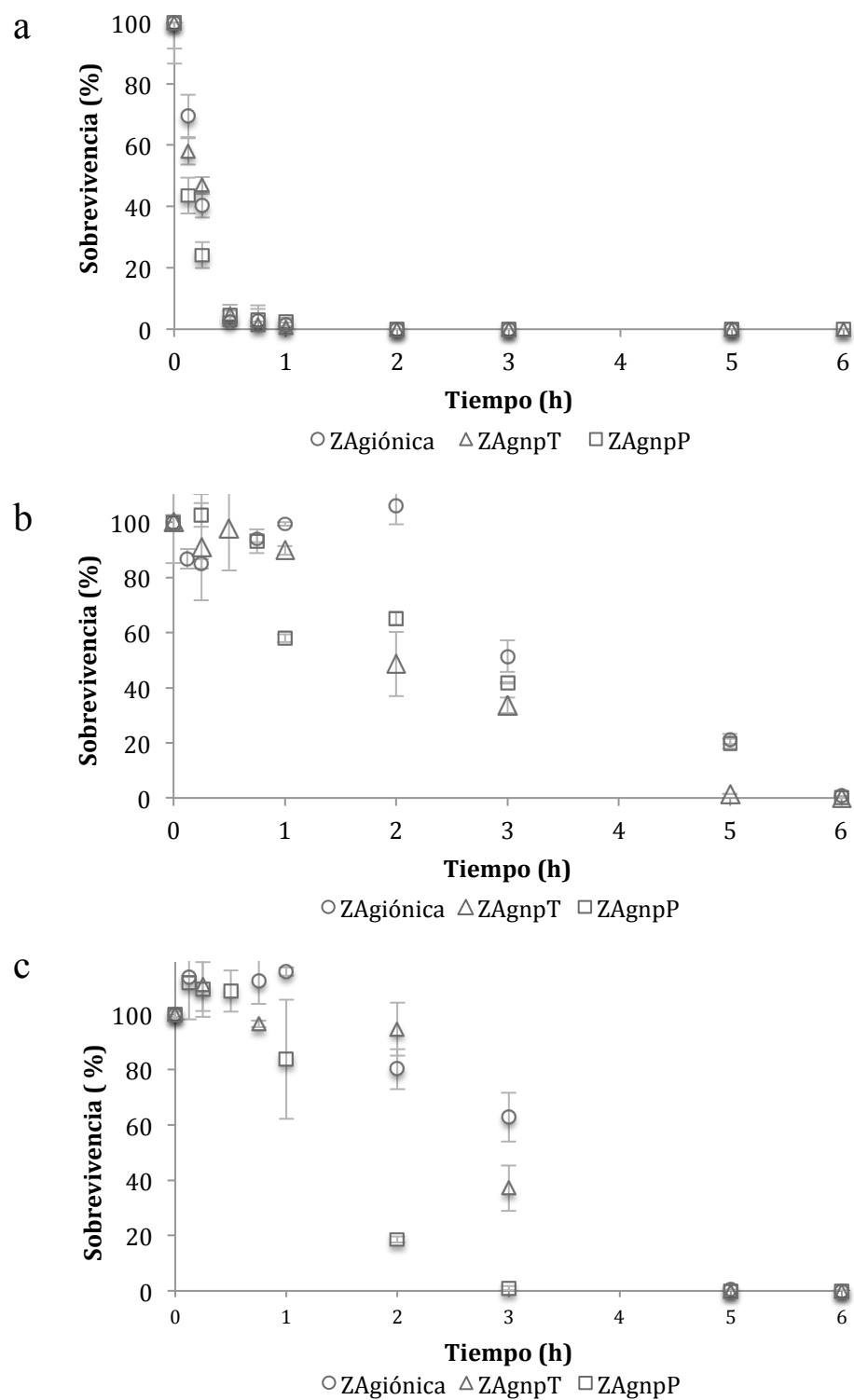


Figura 42. Sobrevivencia del consorcio de *E. coli* (a), *E. faecalis* (b) y *C. albicans* (c) en agua desionizada (100 mL) frente a ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP (20 mg).

Las bacterias pueden clasificarse con base en la estructura celular y el metabolismo, entre otras características. En el presente trabajo de investigación, se consideró la estructura de la pared celular para asociarla al comportamiento de desinfección de las bacterianas *Escherichia coli* (gram positiva) y *Enterococcus faecalis* (gram negativa). Como se muestra a continuación, la respuesta de estos microorganismos frente a los materiales zeolíticos de plata ya sea iónica o reducida a nanopartículas, se manifiesta de manera diferente.

*E. coli* se muestra más sensible a la plata en cualquiera de sus acondicionamientos y llega a una inactivación total de 0 % a las 2 horas de exposición frente a ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP (Figura 42a). Los ácidos lipoteicoicos de las Gram negativas, con un arreglo asimétrico en la bicapa lipídica, evita la penetración de estas especies metálicas, reteniéndolas o retrasándolas para que no entren al espacio periplasmático en el cual se llevan a cabo diversas reacciones (Cohen, 2011). Además, *E. coli* muestra un comportamiento similar, al que presentó al ser evaluada de manera individual en presencia de ZAgnpT, ya que la inhibición total fue a las 2 h (Figura 43a). Sin embargo, la velocidad de decaimiento celular (obtenida del modelo de Chick no modificado) fue mayor ( $k=5.216 \text{ h}^{-1}$ ), que la encontrada de forma individual (Tablas 11 y 14). La constante cinética de desinfección para *E. coli* en consorcio presenta el orden siguiente:

$$k_{\text{ZAgnpT}} > k_{\text{ZAgiónica}} > k_{\text{ZAgnpP}}.$$

La diferencia de la composición de la pared celular de los microorganismos, también tiene implicaciones para la resistencia a agentes tóxicos, antibióticos o agentes quimioterapéuticos. La permeabilidad de la pared celular, la remoción de agentes antimicrobianos a través de bombas de expulsión de la membrana, modificación de los sitios de acción de las drogas e inactivación de los agentes antimicrobianos entre otros, son mecanismos de resistencia de los organismos procariotas (Rai et al., 2012; Kitagawa et al., 2016).

La respuesta de *E. faecalis* frente a los materiales zeolíticos de plata iónica y plata reducida se refleja en mayores tiempos para la inactivación total y esto puede ser debido, a que las bacterias Gram positivas presentan un esqueleto de petidoglicano mayor, que el de

las Gram negativas (*E. coli*), además de polímeros aniónicos (ácidos teicoicos) y proteínas asociadas. Por su carga negativa, los ácidos teicoicos regulan el movimiento de cationes dentro y fuera de la célula. Las lipoproteínas se ubican en el espacio subcelular entre la membrana plasmática y el peptidoglicano facilitando la captura e importación de nutrientes, además de la localización de enzimas desintoxicantes en algunas especies (Hancock, 2014). Es por ello, que *E. faecalis* requirió de 5 h en presencia de ZAgnpT con una  $t_{lat}$  de 1 h para lograr una desinfección total (Figura 43b), mientras que para ZAgnpP y ZAgiónica requiriendo 6 h de contacto para lograr la inhibición total (Tabla 14).

El tiempo necesario para la inactivación total para *E. faecalis* (en consorcio), por los materiales zeolíticos presentan el orden siguiente:

$$t_f ZAgiónica = t_f ZAgnpP > t_f ZAgnpT$$

*Candida albicans* es un microorganismo Eucariota y su patogenicidad está asociada principalmente a la pared celular, ya que de ella dependen sus propiedades de adhesión al huésped y los cambios morfológicos en su ciclo de vida. La pared celular de la levadura está considerada, como una estructura en capas compuesta por quitina y glucanos, estos componentes le proporcionan también rigidez (Lara et al., 2015). Aunque la pared celular confiere beneficios a la levadura, la presencia de plata en el medio acuoso inhibe su crecimiento. *C. albicans* muestra sobrevivencia cero a las 5 horas de contacto con ZAgnpP y ZAgnpT mientras que con ZAgiónica llegó a 0 % a las 6 horas de tratamiento (Figura 43c). *C. albicans* obtuvo una constante de decaimiento celular de  $1.887 \text{ h}^{-1}$  para ZAgnpP, con un tiempo de inhibición total de 5 h (Figura 43c). Para ZAgnpT se encontró un valor de  $k = 1.559 \text{ h}^{-1}$  y para ZAgiónica fue de  $k = 1.294 \text{ h}^{-1}$ , respectivamente. El tiempo de latencia ( $t_{lat}$ ) con el material zeolítico ZAgnpP fue de 0.5 h, para ZAgiónica fue de 1 h y para ZAgnpT fue de 2 h. El material zeolítico reducido con plasma fue el que presentó el menor tiempo de latencia para *C. albicans* (Tabla 14).

El tiempo necesario para la inactivación total para *C. albicans* (en consorcio), por los materiales zeolíticos presentan el orden siguiente:

$$t_fZAgiónica > t_fZAgnpP = t_fZAgnpT$$

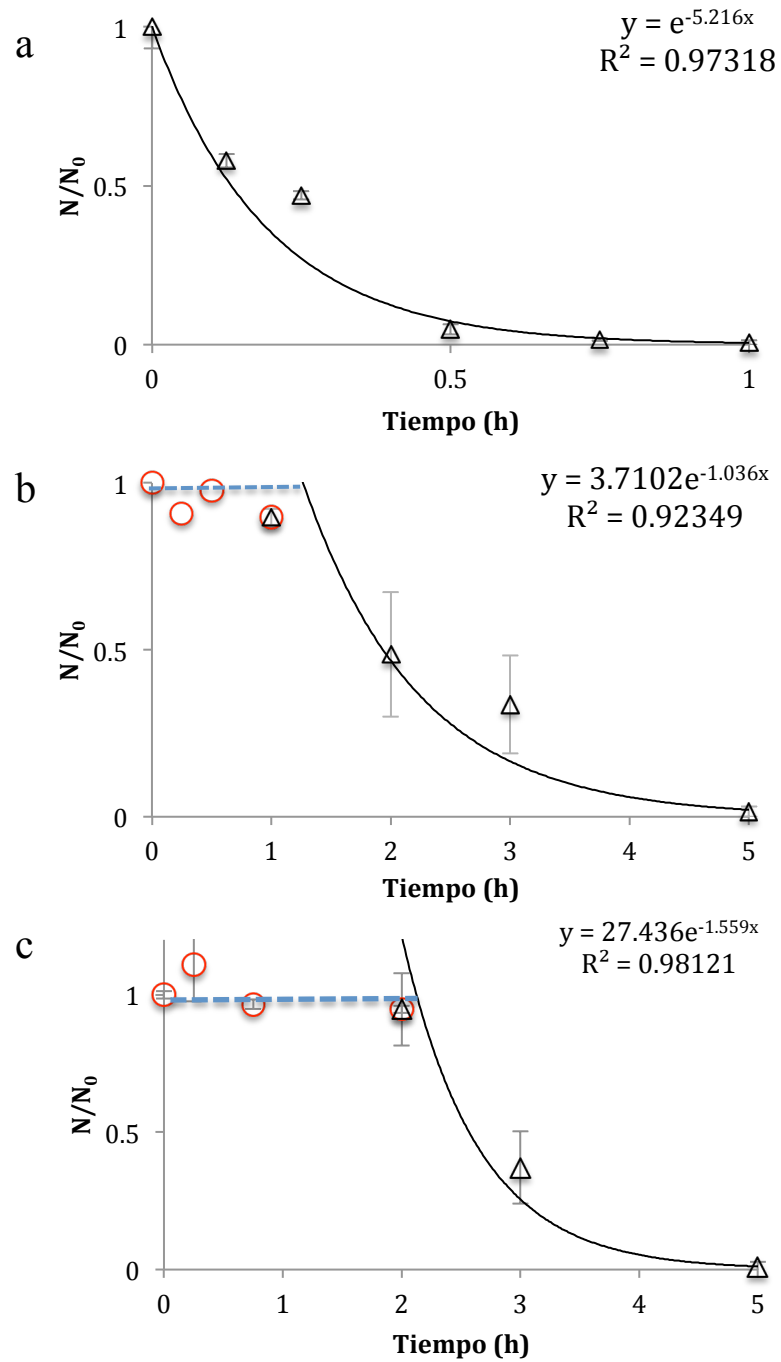


Figura 43. Cinética de desinfección de *E. coli* (a), *E. faecalis* (b) y *C. albicans* (c) frente a ZAgnpT (20 mg) en consorcio y agua desionizada (100 mL).  $\circ$  y  $----$   $t_{lat}$  (fase de latencia).  $\triangle$  Inicio del proceso cinético de desinfección.

### 6.6.2.2 Cinéticas de desorción

En la Tabla 15 se muestra la concentración de plata iónica desorbida en el agua desionizada por los materiales zeolíticos (ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP), después del proceso de desinfección a partir de un consorcio microbiano. La sobrevivencia de los microorganismos disminuye conforme la concentración de plata aumenta en el medio acuoso con respecto al tiempo (Figura 43). En la Figura 44 se muestra la concentración inicial al tiempo 0 h y una concentración máxima a las 3 h de contacto de  $0.08 \pm 0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  correspondiente al material ZAgnpP.

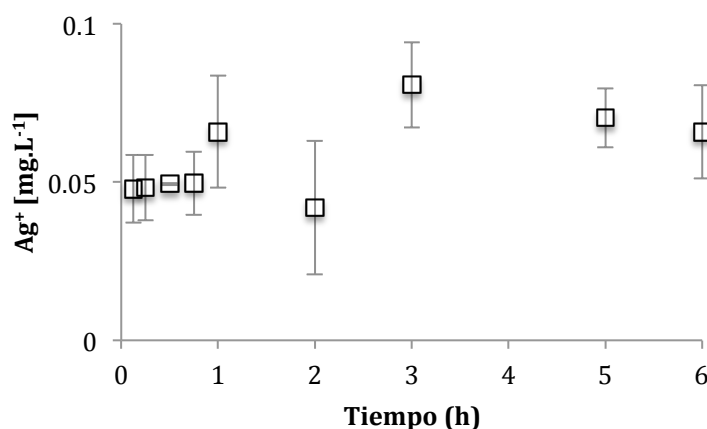


Figura 44. Desorción de plata por el material ZAgnpP (20 mg) en agua desionizada (100 mL) con respecto al tiempo, el consorcio microbiano como microorganismos de prueba.

En la Tabla 14 se muestra la concentración de  $\text{Ag}^+$  desorbida y el ajuste a los modelos cinéticos de difusión. La desorción de la plata se ajustó al modelo cinético de *Korsmeyer- Peppas* para los tres materiales zeolíticos, ZAgnpT ( $k = 0.0099 \text{ h}^{-n}$ ) (Figura 45), ZAgiónica ( $k = 0.0149 \text{ h}^{-n}$ ) y ZAgnpP ( $k = 0.0093 \text{ h}^{-n}$ ) (gráfico en Anexo 4, E). Los valores de  $n$  menores a 0.5 implican un proceso simultáneo de difusión tanto en el líquido como en el sólido.

Tabla 15. Concentración de  $\text{Ag}^+$  desorbida por los materiales zeolíticos ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP en agua desionizada, el consorcio microbiano como sistema de prueba.

**Agua Destilada**

<b>mg·L<sup>-1</sup></b>	<b>Tiempo (h)</b>									
	<b>0</b>	<b>0.125</b>	<b>0.25</b>	<b>0.5</b>	<b>0.75</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>6</b>
<b>ZAgiónica [Ag<sup>+</sup>]</b>	0	0.155±0.01	0.084±0.01	0.070±0.05	0.084±0.01	0.094±0.02	0.092±0.02	0.085±0.02	0.085±0.001	0.157±0.01
<b>ZAgnpT [Ag<sup>+</sup>]</b>	0	0.039±0.019	0.041±0.04	0.052±0.001	0.059±0.02	0.057±0.02	0.047±0.006	0.053±0.007	0.110±0.002	0.065±0.02
<b>ZAgnpP [Ag<sup>+</sup>]</b>	0	0.047±0.01	0.048±0.01	0.049±0.01	0.049±0.01	0.065±0.02	0.041±0.02	0.080±0.01	0.070±0.01	0.065±0.01

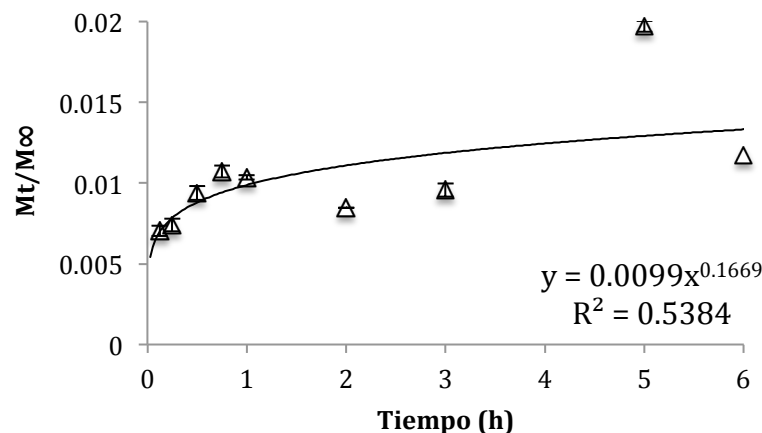


Figura 45. Modelo de *Korsmeyer- Peppas* aplicado a la desorción de la plata por el material ZAgnpT (20 mg) con respecto al tiempo, considerando al consorcio en agua desionizada (100 mL) como microorganismos de prueba.

Se ha sugerido que el efecto de la plata iónica en *C. albicans* induce la apoptosis, afecta la síntesis de ergosterol presente en la membrana celular y altera el funcionamiento mitocondrial por estrés oxidativo (Rowan et al., 2010). Además de que las nanopartículas de plata, actúan a nivel de pared celular perturbándola y permitiendo la unión de iones y otros compuestos, disipando el potencial eléctrico de la membrana, formando poros y muerte celular por la liberación de componentes como glucosa y trealosa al medio extracelular además de la inhibición de procesos celulares (fases G<sub>2</sub>/M) (Kim et al., 2009; Monteiro et al., 2015). Lara et al. (2015) observaron que las nanopartículas afectan la pared y membrana celular, dando lugar a cambios en el diámetro y estructura al incrementar su espesor y la pérdida de la densidad electrónica. La posible interrupción de la fase G<sub>2</sub>/M, trae como consecuencia la inhibición de la formación de hifas en las levaduras, es decir, la filamentación y subsecuente formación de biofilms, uno de los principales factores de virulencia de *Candida*.

Un factor importante que tienen en común los tres microorganismos es la generación de ROS y su relación con la resistencia de cada uno a la plata, en sus diferentes acondicionamientos. Estos pueden ser generados dentro o fuera de la célula producto del metabolismo aerobio y su producción depende del ambiente al que están expuestos. La



toxicidad del oxígeno ocurre, cuando el estrés oxidativo supera los sistemas de defensa de la célula. El oxígeno activo genera daño al ADN, ARN, proteínas, lípidos (Farr y Kogoma, 1991). En la investigación realizada por Hee-Jin et al. (2009), se concluye que los iones plata exhiben mejor actividad bactericida frente a *E. coli* en presencia de oxígeno, además de la generación de radicales superóxido por la alteración de las enzimas de la cadena respiratoria y este deterioro a su vez, puede ser causado por la interacción de los grupos tiol- plata. Debido a que *E. coli* cuenta con tres superóxido dismutasas (SOD por sus siglas en inglés) y catalasas, las cuales son la respuesta genética a estrés superóxido y peróxido, se encargan de dismutar a la molécula de superóxido a peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y a subsecuentemente degradar  $H_2O_2$  a  $H_2O$  y  $O_2$ , permitiendo la desintoxicación en medios ricos en oxígeno (Chiang y Schellhorn, 2012).

El género *Enterococcus* produce  $O_2^-$  extracelular 1000 veces más que lo observado para *E. coli*. El  $O_2^-$  es resultado de la reducción univalente de  $O_2$ . Como anión, es impermeable a la difusión pasiva y se mantiene de manera extracelular cuando es generado fuera de la célula. Sin embargo, puede dismutar para formar oxidantes como  $H_2O_2$  y radicales hidroxilo. Estos altos índices de oxidantes reactivos que se pueden encontrar intra o extracelularmente, requieren defensas antioxidantes. La tolerancia de este organismo al posible estrés oxidativo que representa enfrentarse a ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP, tanto de manera individual como en consorcio, son el resultado de la expresión de diversas proteínas anti-oxidantes que incluyen peroxidasas, oxidasas, peroxiredoxinas y alquil hidroperoxidasas (Ramsey et al., 2014).

La plata provoca alteraciones del citocromo mitocondrial de *C. albicans*, lo cual modifica la respiración celular y el incremento de peróxidos lipídicos sugiriendo que la generación del estrés oxidativo tiene un papel fungicida al igual que las nanopartículas de plata (Rowan et al., 2010; Nasrollahi et al., 2011). Perrone et al. (2008), concluyen que la generación de ROS se lleva a cabo en la mitocondria y a altas concentraciones de estas especies reactivas ( $\cdot OH$ ,  $O_2^-$  y  $H_2O_2$ ), es probable la activación del mecanismo de apoptosis celular. La exposición de las levaduras a concentraciones tóxicas de metales o metaloides, inducen apoptosis o necrosis de acuerdo a la toxicidad del elemento de moderada a alta. De

acuerdo a estos datos y los obtenidos por Lara et al. (2015), las células de *C. albicans* sufren apoptosis, al encontrarse en contacto con plata iónica o nanopartículas.

#### **6.7 Constantes cinéticas de desinfección para el consorcio *E. coli* - *E. faecalis* - *C. albicans* en agua desionizada en presencia de $\text{Fe}^{+3}$ y $\text{Mn}^{2+}$ y desorción de $\text{Ag}^+$**

##### **6.7.1 Efecto del material zeolítico sódico sobre el consorcio en presencia de $\text{Fe}^{3+}$ y $\text{Mn}^{2+}$**

Los organismos en consorcio en agua desionizada en presencia de  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$  frente al material zeolítico sódico, presentan cambios en los porcentajes de sobrevivencia entre los tipos de microorganismos y esto puede ser debido, al efecto de los iones metálicos sobre la sobrevivencia microbiana, aunado al que presenta la  $\text{Ag}^+$ . Estos metales son micronutrientes y se requieren en concentraciones pequeñas, ya que están involucrados en las funciones enzimáticas de reacciones redox en los microorganismos (Cowan, 2012), por ello es probable que *E. coli* y *E. faecalis* mantuvieran o aumentaran sus porcentajes de sobrevivencia, en comparación con lo observado en la Figura 38, es decir sin  $\text{Mn}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$ . Sin embargo, la reducción del porcentaje de sobrevivencia de la levadura *C. albicans* es un indicativo de que estos metales a concentraciones superiores a las necesarias, pueden resultar tóxicos, dependiendo del tipo de microorganismo (Porcheron et al., 2013). De manera general el material zeolítico sódico no presenta cualidades desinfectantes que logren una inhibición total de los microorganismos.

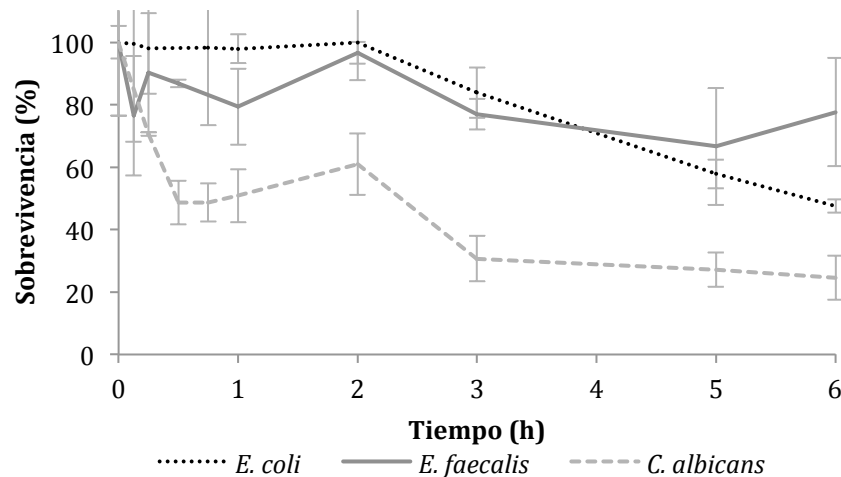


Figura 46. Sobrevivencia del consorcio *E. coli*-*E. faecalis*-*C. albicans*, en agua desionizada (100 mL) con  $\text{Fe}^{+3}$  y  $\text{Mn}^{2+}$  frente a ZNa (20 mg).

#### 6.7.2 Cinéticas de desinfección para el consorcio en agua desionizada en presencia de $\text{Fe}^{+3}$ y $\text{Mn}^{2+}$ y desorción de la $\text{Ag}^+$ de los materiales zeolíticos

##### 6.7.2.1 Cinéticas de desinfección

En la Figura 47 se muestra el comportamiento de los 3 organismos en consorcio (Gram positiva-Gram negativa-Levadura) frente a los 3 materiales zeolíticos acondicionados con plata y/o reducidos con extracto de toronja y plasma (ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP) en agua desionizada con  $\text{Fe}^{+3}$  (5 mg/L partiendo de una sal de  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ ) y  $\text{Mn}^{2+}$  (2.5 mg/L partiendo de una sal de  $\text{MnSO}_4$ ), como interferentes.

El  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$  son considerados interferentes del agua a tratar en el proceso de desinfección, debido a que se encuentran comúnmente en el agua apta para consumo, por la corrosión de las tuberías por las que es suministrada y desde las fuentes de abastecimiento con niveles altos de Fe/Mn, aunado al hecho de que algunos acuíferos contienen sales ricas en hierro y manganeso que pueden ser disueltas en el agua y llegar hasta los sistemas de abastecimiento. La presencia de estos metales en las redes de distribución, provoca la

aparición de bacterias que los consumen y forman biofilms en las tuberías, ocasionando mal aspecto y problemas de olor, color y sabor en el agua (CONAGUA, 2007).

Adicionalmente a los efectos organolépticos provocados al agua, los iones metálicos son importantes para la sobrevivencia de los seres vivos, debido a su participación como constituyentes de proteínas y como cofactores de enzimas que requieren de metales (manganeso, hierro, zinc, cobre), para cumplir su función incluyendo la respiración celular, replicación del ADN y protección contra estrés oxidativo. Por otro lado, altas concentraciones de estos metales de transición son tóxicos y por ello las células controlan la concentración a nivel intracelular, mediante mecanismos de absorción y exportación a través de la pared celular, hacia o desde el citoplasma de acuerdo a sus necesidades, empleando transportadores iónicos para regular este control homeostático (Jakubovics y Valentine 2009; Porcheron et al., 2013).

Ya que estos metales están involucrados en diversos procesos metabólicos. El hierro puede presentarse en dos formas, como ión férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ) o como ión ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ), siendo en su forma ferrosa la más empleada biológicamente, pero menos biodisponible (Krewulak y Vogel, 2008). Por ello los microorganismos emplean sistemas de transporte y secretan proteínas con el fin de obtener hierro libre. Cabaj y Kosakowska (2009), proponen que la concentración de hierro influye sobre el crecimiento de los microorganismos, ya que al modificar la concentración de dicho metal, se observan modificaciones en las etapas del crecimiento.

Asimismo el  $\text{Mn}^{2+}$  es de vital importancia, ya que protege a los organismos Gram positivos y negativos contra el estrés oxidativo y la desintoxicación de las especies reactivas de oxígeno. El ingreso de este metal a las células esta mediado por sistemas de transporte, los cuales se activan de acuerdo a la disponibilidad del manganeso en el ambiente. Tanto para el hierro como para el manganeso cuando la concentración del metal aumenta, se reprime el flujo de entrada y automáticamente se activan los sistemas de expulsión (Jakubovics y Valentine 2009; Porcheron et al., 2013).

Al interactuar *E. coli* como parte del consorcio, con el  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$ , muestra un comportamiento favorable por la presencia de estos metales, ya que tiende a aumentar su tiempo de sobrevivencia a 3 horas para ZAgiónica y ZAgnpP, mientras que con ZAgnpT (Figura 47a) mantiene el tiempo de 2 h de contacto, para alcanzar la inhibición total, en comparación a los resultados obtenidos para el consorcio en agua desionizada en ausencia de los iones metálicos (Figura 42). Esto se puede deber, a la concentración y estados de oxidación de la plata en este material (ZAgnpT).

*E. coli* frente a ZAgnpT, presenta una inhibición total a las 2 h, nuevamente no presenta  $t_{lat}$  (Figura 48a) con una velocidad de decaimiento celular de  $3.03 \text{ h}^{-1}$  (Tabla 16), mientras que para ZAgnpP ( $k = 2.698 \text{ h}^{-1}$ ) y ZAgiónica ( $2.101 \text{ h}^{-1}$ ) requieren de 3 h de contacto. Por lo que, la constante cinética de desinfección obtenida del modelo de Chick no modificado para *E. coli* en consorcio y en agua desionizada con  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$ , presenta el orden siguiente:

$$k_{\text{ZAgnpT}} > k_{\text{ZAgnpP}} > k_{\text{ZAgiónica}}$$

La membrana externa de *E. coli* (Gram negativa) no permite el paso de complejos de alto peso molecular a través de las porinas, por ello requiere de receptores de membrana que permitan la entrada de los elementos unidos a proteínas en el espacio periplasmático y a su vez, a las moléculas transportadoras en la membrana celular interna. Esto implica un gasto de energía y las bacterias Gram negativas, carecen de un gradiente de energía para el transporte.

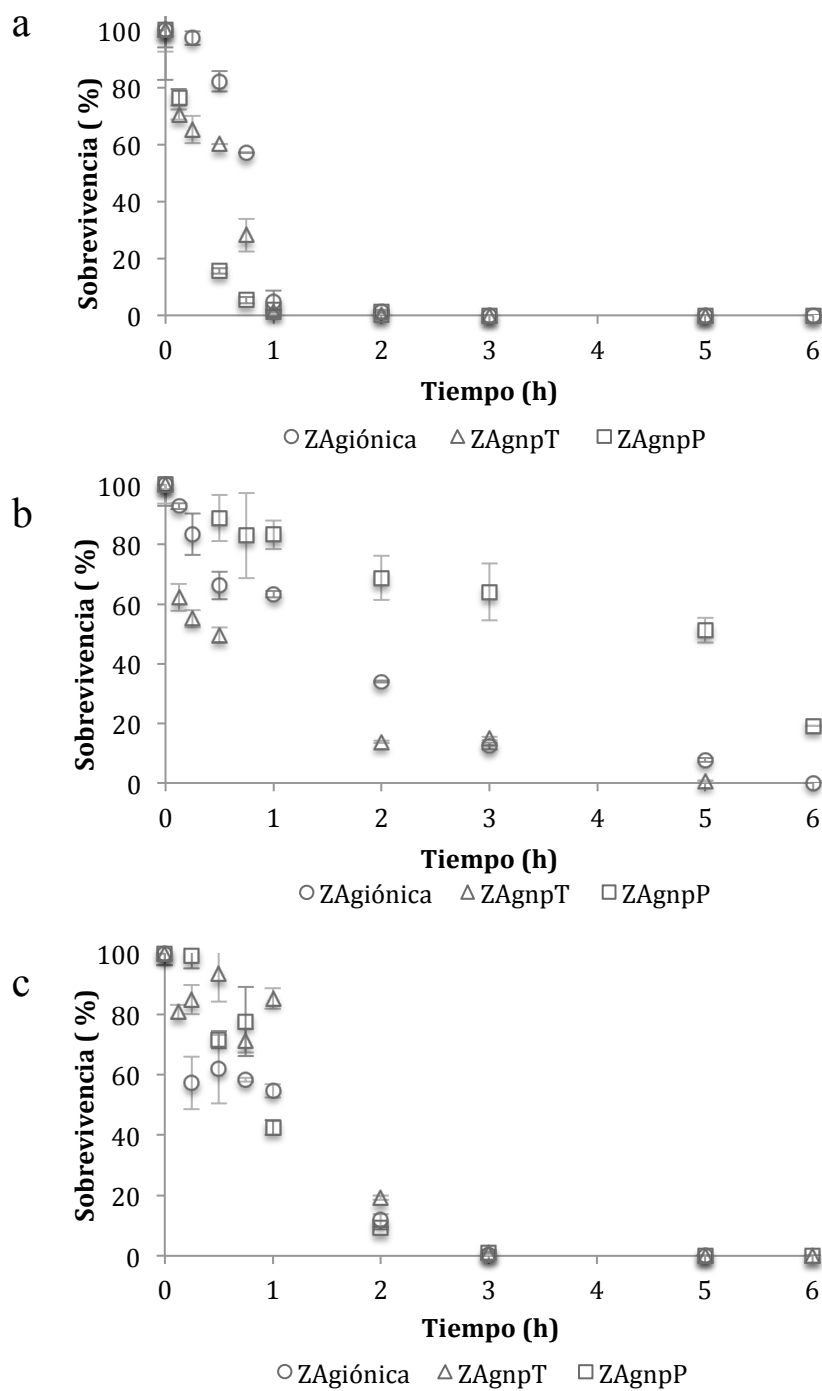


Figura 47. Sobrevivencia del consorcio de *E. coli* (a), *E. faecalis* (b) y *C. albicans* (c) en agua desionizada con  $Mn^{2+}$  y  $Fe^{2+}$  frente a ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP.

Los aportes del  $\text{Mn}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$  como micronutrientes hacia *E. coli*, favorecen su crecimiento. Sin embargo, la plata desorbida cumple con su efecto desinfectante, ya que aunque aumenta el tiempo de sobrevivencia de los microorganismos en algunos casos, debido a la posible protección del  $\text{Mn}^{2+}$  contra el estrés oxidativo generado por la plata al generarse los ROS, se logra el 0 % de sobrevivencia con los materiales zeolíticos empleados.

*E. faecalis* (Gram positiva), no presenta una membrana externa en su barrera de protección celular y la presencia de proteínas unidas a la pared cumplen la función de aquéllas en el espacio periplasmático de las Gram negativas, por lo que es asequible la utilización de la fuente del hierro y manganeso, con bajo costo energético (Krewulak y Vogel, 2008; Porcheron et al., 2013). Estas diferencias entre las bacterias Gram negativas y las Gram positivas, permiten que el tiempo necesario para la desinfección total aumente (Tabla 16), ya que requirió de 6 h en presencia de ZAgnpT ( $k = 0.946 \text{ h}^{-1}$ ) (Figura 48b) y ZAgiónica ( $k = 0.558 \text{ h}^{-1}$ ), para lograr una desinfección total, mientras que requiere más de 6 h de contacto con ZAgnpP ( $k = 0.207 \text{ h}^{-1}$ ) para lograr la inhibición total, siendo ZAgnpT más rápida. A diferencia con lo observado en la Tabla 14, *E. faecalis* no presenta  $t_{lat}$ , cuando está en presencia de  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$ , esto puede deberse a que los mecanismos de defensa contra el estrés oxidativo y la desintoxicación de las especies reactivas de oxígeno no son eficientes. La constante cinética de desinfección (obtenida a partir del modelo de Chick no modificado) para *E. faecalis* en consorcio y en agua desionizada con  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$ , presenta el orden siguiente:

$$k_{\text{ZAgnpT}} > k_{\text{ZAgiónica}} > k_{\text{ZAgnpP}}$$

Las levaduras, son microorganismos que como las bacterias, requieren al  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$  para procesos bioquímicos. Emplean proteínas transportadoras de hierro para regular la homeostasis iónica y evitar la toxicidad en el interior de la célula. *C. albicans* es una especie patógena comensal de mucosas humanas, en estos ambientes la disponibilidad de los metales principalmente el hierro está restringido y hay una competencia por este elemento. Sin embargo, en exceso puede ser tóxico, generando especies oxígeno reactivas.

Asimismo para el manganeso, ya que las levaduras cuentan con una línea completa de transportadores a nivel de membrana plasmática hasta los organelos (Mitocondria, Vacuola y Aparato de Golgi), que permiten el almacenaje y/o desintoxicación de iones metálicos y llevando a cabo un equilibrio homeostático (Philpott, 2006; Yang et al., 2005).

*C. albicans* en contacto con los materiales zeolíticos, presentó una constante de decaimiento celular mayor en presencia de ZAgiónica de  $2.732 \text{ h}^{-1}$ , con un tiempo de inhibición total de 3 h (Figura 48c) y un  $t_{lat}$  de 1 h, para ZAgnpT el valor de la k encontrado fue de  $2.131 \text{ h}^{-1}$  y un  $t_{lat}$  de 1 h. En cuanto a ZAgnpP el valor de k fue de  $1.827 \text{ h}^{-1}$ , un  $t_{lat}$  igual a 0.75 h y requiere un tiempo mayor de 5 h de contacto, para lograr la inhibición total. Siendo el material zeolítico iónico el que obtuvo velocidad de decaimiento celular más rápida (Tabla 16).

El tiempo necesario para la inactivación total para *C. albicans* en consorcio y en agua desionizada con  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$ , presenta el orden siguiente:

$$t_{\text{ZAgnpT}} = t_{\text{ZAgnpP}} > t_{\text{ZAgiónica}}$$

Por último es necesario considerar, que los microorganismos tanto procariotas como eucariotas expresan estos factores de transporte, almacenaje y expulsión de iones metálicos, que son propiamente mecanismos de patogenicidad, durante la invasión de un hospedero. Se establece una competencia entre las bacterias y las células hospederas por los iones metálicos, para una colonización exitosa, con la finalidad de adaptarse a los nutrientes presentes en los tejidos y obtener los necesarios para su crecimiento y reproducción (Cárdenas-Perea et al., 2014; Ene et al., 2014).



Tabla 16. Parámetros del proceso de desinfección para el consorcio en agua desionizada con  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$  frente a los materiales zeolíticos ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP.

Material Zeolítico	Inhibición total $t_f(\text{h})$	Constante cinética de desinfección (modelo de Chick o Chick modificado)			[Ag] al $t_f(\text{h})$ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	Constante cinética de desorción <sup>a</sup> <i>Higuchi</i> , <sup>b</sup> <i>Korsmeyer- Peppas</i>		
		$k(\text{h}^{-1})$	$t_{lat}(\text{h})$	$R^2$		$k(h^{-\frac{1}{2}})^a$ ; $k(h^{-n})^b$	$R^2$	n
<b>Microorganismo</b>								
<i>Escherichia coli</i>								
ZAgiónica	3	2.101	*	0.836	0.39±0.1	ZAgiónica (consorcio)		
ZAgnpT	2	3.03	*	0.704	0.2±0.02	0.0187 <sup>b</sup>	0.869	0.886
ZAgnpP	3	2.698	*	0.764	0.36±0.05			
<i>Enterococcus faecalis</i>								
ZAgiónica	6	0.558	*	0.962	0.48±0.01	ZAgnpT (consorcio)		
ZAgnpT	6	0.946	*	0.946	0.44±0.01	0.0171 <sup>b</sup>	0.983	0.969
ZAgnpP	t>6	0.207	*	0.827	0.49±0.01			
<i>Candida albicans</i>								
ZAgiónica	3	2.732	1	0.939	0.39±0.1	ZAgnpP (consorcio)		
ZAgnpT	5	2.131	1	0.97	0.4±0.001	0.029 <sup>a</sup>	0.952	^
ZAgnpP	5	1.827	0.75	0.99	0.36±0.1			

\* $t_{lat}$  - No se observó periodo de latencia    ^ n=0.5

De manera general es posible llevar a cabo una comparación ante el efecto que genera la presencia o ausencia de los metales  $\text{Fe}^{3+}$ /  $\text{Mn}^{2+}$ , sobre el consorcio microbiano ya que los tiempos de contacto necesarios para lograr la inhibición total aumentaron en presencia de estos metales, en comparación con el proceso de desinfección en su ausencia. Otro proceso que se ve modificado por la presencia de estos metales es la ausencia de tiempo de latencia, que había sido observado para la bacteria Gram positiva. Por lo que los metales  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$ , juegan un papel a varios niveles del proceso de desinfección.

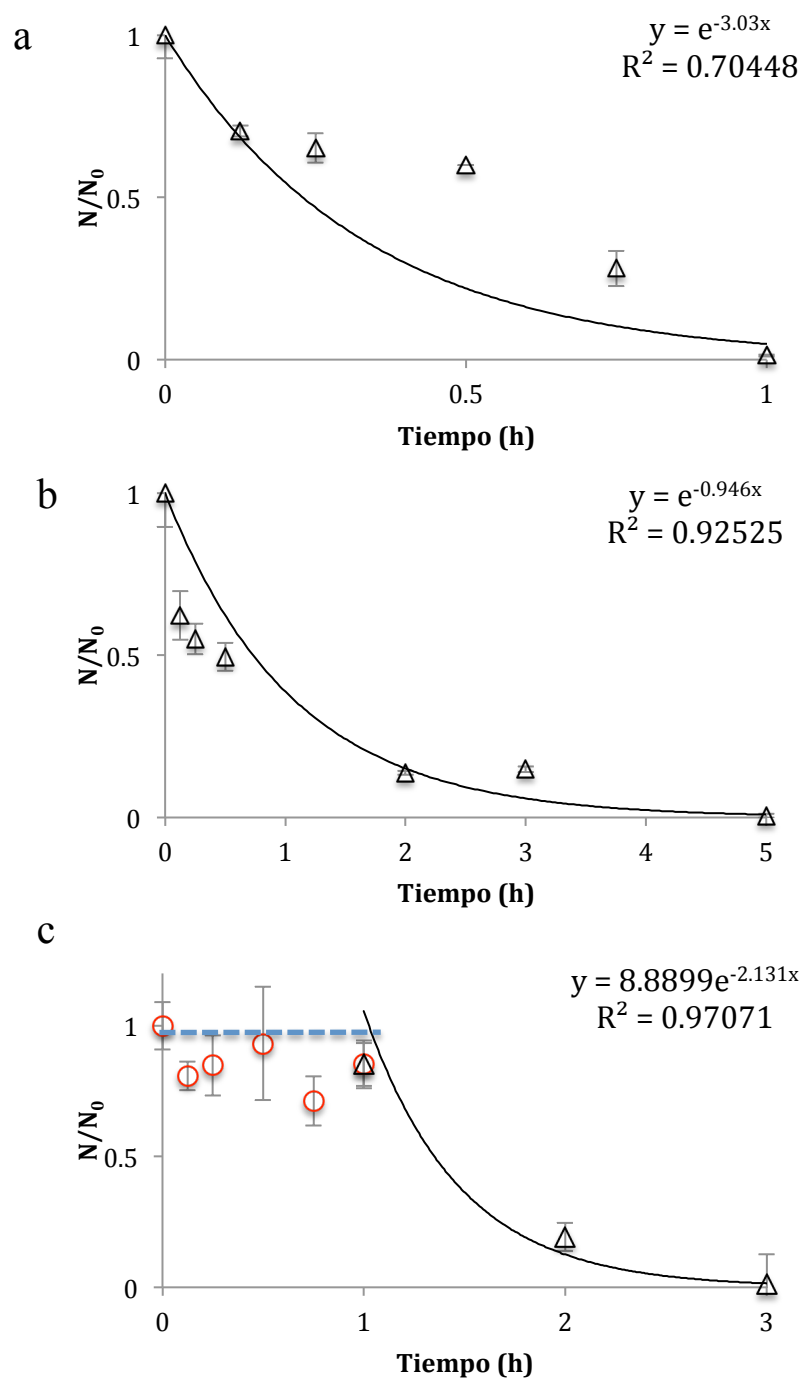


Figura 48. Cinética de desinfección de *E. coli* (a), *E. faecalis* (b) y *C. albicans* (c) frente a ZAgnpT, en consorcio y agua desionizada con  $Fe^{3+}$  y  $Mn^{2+}$ .  $\circ$  y  $----$   $t_{lat}$  (fase de latencia).  $\triangle$  Inicio del proceso cinético de desinfección.

### 6.7.2.2 Cinéticas de desorción

#### 6.7.2.2.1 Desorción de $\text{Na}^+$

Se determinó la concentración de sodio desorbido por la ZNa, al estar en contacto con el consorcio microbiano (*E. coli*- *E. faecalis*- *C. albicans*) en el agua desionizada y en presencia de hierro y manganeso. Como se puede observar en la Figura 49, el material zeolítico sódico aporta una concentración de Na máxima de  $2.3 \pm 0.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  a las 5 horas de contacto. En la Tabla 17 se muestra que el sodio también se desorbe de los materiales zeolíticos intercambiados y/o reducidos con plata, aportando hasta  $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , lo que implica que no todo el sodio se intercambió por los iones plata durante los acondicionamientos y que estos cationes pueden ser fácilmente intercambiados por otros cationes, tales como el  $\text{Fe}^{3+}$  y el  $\text{Mn}^{2+}$ .

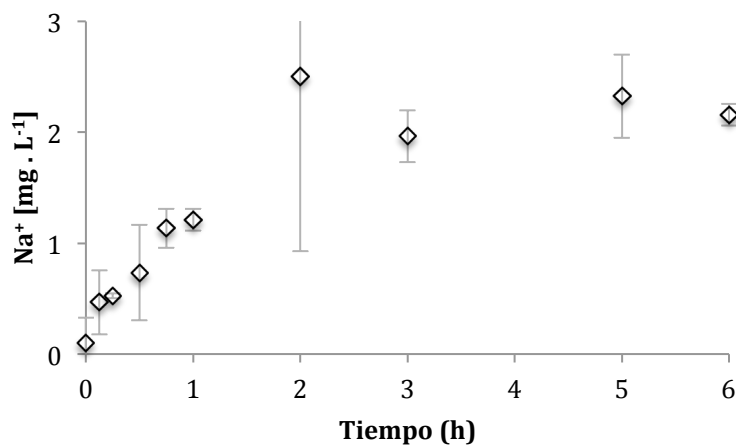


Figura 49. Desorción del  $\text{Na}^+$  por el material ZNa (20 mg) con respecto al tiempo y el consorcio en agua desionizada (100 mL) en presencia de  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$ , como microorganismos de prueba.

Tabla 17. Concentración de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Ag}^+$  ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) desorbidos y remoción de Fe y Mn ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) por los materiales zeolíticos ZNa, ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP en agua desionizada con  $\text{Mn}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$ , el consorcio como microorganismos de prueba.

**Agua Destilada con  $\text{Mn}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$**

<b><math>\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}</math></b>	<b>Tiempo (h)</b>									
	<b>0</b>	<b>0.125</b>	<b>0.25</b>	<b>0.5</b>	<b>0.75</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>6</b>
<b>ZNa [<math>\text{Na}^+</math>]</b>	0.09±0.02	0.46±0.2	0.52±0.02	0.73±0.43	1.13±0.18	1.21±0.10	2.05±1.58	1.96±0.23	2.32±0.37	2.16±0.10
<b>ZNa [Mn]</b>	2.43±0.15	2.38±0.13	2.40±0.16	2.33±0.29	2.22±0.23	2.18±0.18	2.09±0.01	2.1±0.13	2.05±0.04	1.91±0.06
<b>ZNa [Fe]</b>	4.66±0.24	4.22±0.11	4.53±0.01	4.32±0.11	4.13±0.07	4.31±0.30	4.28±0.25	4.10±0.40	4.20±0.09	4.22±0.21
<b>ZAgiónica [<math>\text{Na}^+</math>]</b>	0.13±0.01	0.46±0.21	0.53±0.03	0.78±0.15	0.81±0.19	0.85±0.01	1.26±0.16	3.42±1.0	1.72±0.02	2.07±0.21
<b>ZAgiónica [<math>\text{Ag}^+</math>]</b>	0	0.01±0.01	0.04±0.03	0.180±0.11	0.075±0.05	0.12±0.03	0.25±0.06	0.39±0.14	0.38±0.01	0.48±0.01
<b>ZAgiónica [Mn]</b>	2.43±0.03	2.38±0.09	2.29±0.04	2.34±0.01	2.3±0.01	2.2±0.04	2.03±0.06	1.87±0.06	1.8±0.10	1.88±0.02
<b>ZAgiónica [Fe]</b>	4.52±0.001	4.37±0.52	4.15±0.52	4.22±0.59	3.99±0.16	3.92±0.73	3.75±0.81	3.41±0.50	3.55±0.48	4.20±0.13
<b>ZAgnpT [<math>\text{Na}^+</math>]</b>	0.13±0.08	1.36±1.07	0.57±0.21	1.5±0.81	1.57±0.81	1.06±0.20	1.35±0.01	2.12±0.71	1.83±0.08	1.84±0.12
<b>ZAgnpT [<math>\text{Ag}^+</math>]</b>	0	0.01±0.001	0.025±0.01	0.05±0.04	0.095±0.04	0.105±0.01	0.205±0.02	0.31±0.06	0.40±0.03	0.44±0.001
<b>ZAgnpT [Mn]</b>	2.39±0.22	2.31±0.22	2.26±0.32	2.22±0.35	2.25±0.23	2.20±0.22	2.14±0.19	2.1±0.23	1.99±0.21	1.74±0.02
<b>ZAgnpT [Fe]</b>	4.20±0.09	3.89±0.25	3.73±0.04	3.51±0.15	3.57±0.20	3.47±0.21	3.47±0.07	3.69±0.29	3.47±0.16	3.62±0.02
<b>ZAgnpP [<math>\text{Na}^+</math>]</b>	0.37±0.03	0.52±0.4	0.51±0.03	1.05±0.14	0.93±0.16	1.12±0.39	1.19±0.03	1.63±0.12	1.90±0.04	1.98±0.04
<b>ZAgnpP [<math>\text{Ag}^+</math>]</b>	0	0.02±0.01	0.055±0.02	0.120±0.01	0.14±0.01	0.15±0.06	0.235±0.02	0.355±0.05	0.355±0.11	0.49±0.01
<b>ZAgnpP [Mn]</b>	3.07±0.82	3.02±1.07	2.98±1.10	2.93±1.07	2.86±1.05	2.81±0.97	2.75±1.04	2.65±1.01	2.56±0.98	3.30±0.01
<b>ZAgnpP [Fe]</b>	4.80±0.10	4.43±0.1	4.40±0.03	4.30±0.13	4.18±0.04	4.09±0.23	4.0±0.08	4.01±0.02	3.92±0.19	3.7±0.001

#### 6.7.2.2.2 Desorción de $Ag^+$

Se determinó la concentración de plata desorbida por los materiales zeolíticos (ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP) y se encontró que supera el límite máximo permitido por la norma oficial mexicana vigente para agua de consumo (0.05 mg/L). Al comparar los tres materiales zeolíticos, la concentración de plata presente en el agua aumenta con respecto al tiempo (ver gráficos Anexo 5, D), mientras que la sobrevivencia de los microorganismos disminuye (Figura 48). En la Figura 50, se muestra que la concentración máxima de plata a las 6 h de contacto es de  $0.44 \pm 0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , para el material ZAgnpT. Es importante destacar, que la concentración de plata en el medio acuoso es mayor en presencia de los iones  $Mn^{2+}$  y  $Fe^{3+}$ , ya que al emplear agua desionizada sin estos metales, la concentración máxima fue de  $0.15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  (Tabla 17), por lo que estos iones promueven la difusión de la plata iónica al medio acuoso, estabilizando la red cristalina al ocupar los sitios de intercambio extra red de los materiales zeolíticos.

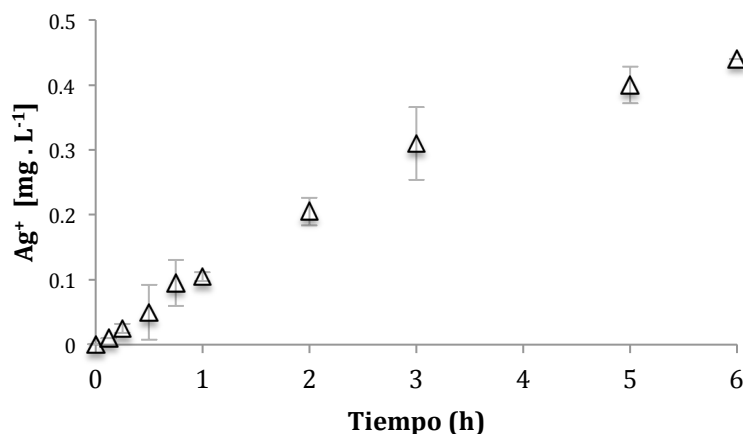


Figura 50. Desorción de la  $Ag^+$  por el material ZAgnpT (20 mg) en agua desionizada (100 mL) con  $Fe^{3+}$  y  $Mn^{2+}$  con respecto al tiempo y el consorcio como microorganismos de prueba.

En la Tabla 16 se muestra la concentración de  $Ag^+$  desorbida y el ajuste a los modelos cinéticos de difusión. La desorción de la plata se ajustó al modelo cinético de *Korsmeyer- Peppas* para los materiales zeolíticos, ZAgnpT ( $k = 0.0171 \text{ h}^{-n}$ ) (Figura 51) y ZAgiónica ( $k = 0.0187 \text{ h}^{-n}$ ) con valores de  $n$  de 0.886 y 0.969. Cuando el valor de  $n=1$ ,

corresponde a una difusión a velocidad constante durante el proceso de desorción. La ZAgiónica mostró una velocidad de desorción mayor. Los datos experimentales de la cinética de desorción de  $\text{Ag}^+$  para la ZAgnpP se ajustaron al modelo de Higuchi ( $k = 0.029 \text{ h}^{-\frac{1}{2}}$ ), con una velocidad de difusión de tipo Fick. La difusión de la plata se lleva a cabo continuamente, por lo que el proceso de desinfección no se ve comprometido por la presencia de  $\text{Fe}^{3+}/\text{Mn}^{2+}$ , al no observarse saturación del material zeolítico.

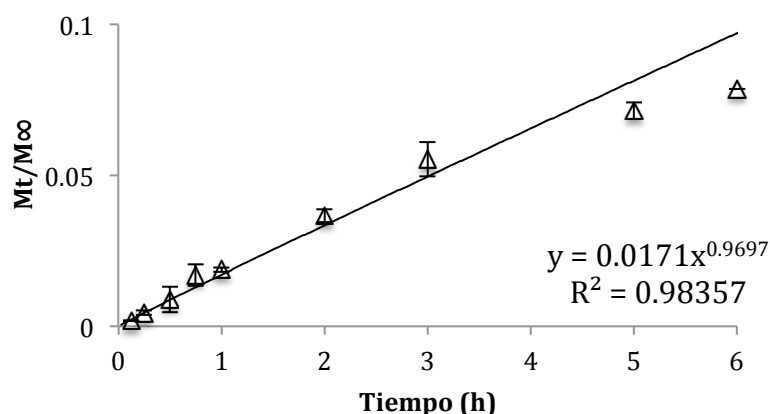


Figura 51. Modelo de *Korsmeyer- Peppas* aplicado a la desorción de la plata por el material ZAgnpT (20 mg) con respecto al tiempo, considerando al consorcio en agua desionizada (100 mL) con  $\text{Mn}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$ , como microorganismos de prueba.

#### 6.7.2.2.3 Remoción de $\text{Fe}^{3+}$ y $\text{Mn}^{2+}$ del agua desionizada con hierro y manganeso

Aunado a las propiedades desinfectantes derivadas de la desorción de los iones plata de los materiales zeolíticos al medio acuoso, se evaluó la remoción del hierro y el manganeso del agua desionizada que los contenían, debido a que en un sistema como el propuesto, estos metales pueden interferir en el proceso de desinfección.

Sin embargo, el proceso de desinfección no se ve comprometido por la presencia de estos iones metálicos. Estos elementos son de utilidad para los microorganismos y a las concentraciones empleadas, redujeron el tiempo de latencia que pueden presentar *E. faecalis* y/o *C. albicans*, así como el tiempo total de desinfección del consorcio.

El comportamiento del material zeolítico en este sistema, muestra su efectiva capacidad como intercambiador iónico, ya que mientras difunde los iones plata y/o sodio, los iones hierro y manganeso ocupan los sitios de la red cristalina del material zeolítico, para equilibrar las cargas de ésta. En la Tabla 17 se muestra la concentración de  $Mn^{2+}$  y  $Fe^{3+}$  con respecto al tiempo. La concentración remanente a las 6 horas se reduce en la mayoría de los casos lo que implica que están siendo removidos por el material zeolítico. Se lleva a cabo una remoción mayor del manganeso que del hierro y esto se puede deber, a la competencia que se establece entre el  $Mn^{2+}$  y  $Fe^{3+}$  por los sitios de intercambio del material zeolítico (Figura 52). Sin embargo, esta competencia conlleva a la reducción en la eficiencia de remoción.

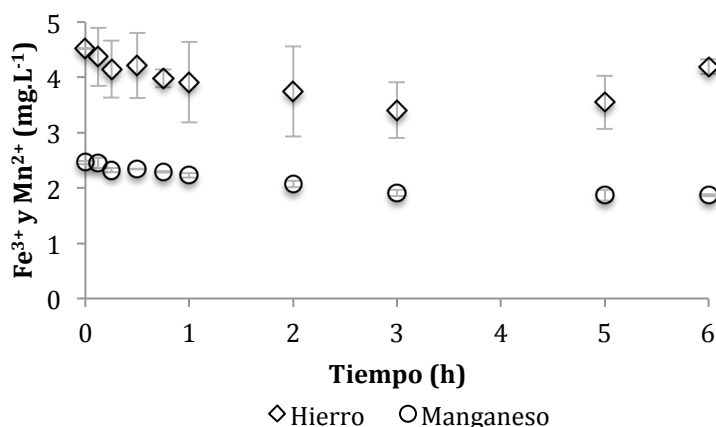


Figura 52. Remoción del hierro y manganeso por la ZAgiónica (20 mg) con respecto al tiempo y el consorcio en agua desionizada (100 mL) con  $Mn^{2+}$  y  $Fe^{3+}$ , como microorganismos de prueba.

#### 6.7.2.2.4 Capacidad de sorción de los materiales zeolíticos para hierro y manganeso del agua desionizada con $Fe^{3+}$ y $Mn^{2+}$

La capacidad de intercambio iónico de los materiales zeolíticos está dada, por la cantidad de equivalentes de un catión, que es capaz de intercambiar por gramo de masa zeolítica. Esta capacidad de intercambio se optimiza al obtener un material homoiónico (ZNa), el cual permite que los sitios de intercambio sean más accesibles, ya que este catión es fácilmente intercambiable. Una vez logrado el intercambio iónico de  $Na^{+}$  por  $Ag^{+}$  y al

enfrentar ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP a los metales interferentes  $\text{Mn}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$  en el medio acuoso, se logró determinar que los materiales zeolíticos presentan mayor selectividad por  $\text{Mn}^{2+}$  que por  $\text{Fe}^{3+}$ . De acuerdo a Motsi et al. (2009), se atribuye la diferencia en la capacidad de sorción de estas especies metálicas, a factores tales como el diámetro de hidratación, la entalpía de hidratación y la capacidad de solubilidad de los cationes. Idealmente las partículas más pequeñas son sorbidas en mayores cantidades y a mayor velocidad, ya que pueden atravesar los microporos y canales de la zeolita. Los radios de hidratación ( $r_H$ ) reportados para los cationes bajo investigación son:  $r_H\text{Mn}^{2+} = 4.38 \text{ \AA}$  y  $r_H\text{Fe}^{3+} = 4.57 \text{ \AA}$ . Asimismo la entalpía de hidratación, permite conocer la facilidad con la que el catión interactúa con el sorbente y las energías de hidratación reportadas para los cationes mencionados son:  $\text{Mn}^{2+} = -1760 \text{ kJmol}^{-1}$  y  $\text{Fe}^{3+} = -4265 \text{ kJmol}^{-1}$ , respectivamente. Por lo tanto, cuanto más hidratado el catión como en el caso del hierro, más fuerte su entalpía de hidratación y menor su capacidad de interactuar con el sorbente, esto corresponde al orden general de la selectividad de iones, concordando con los resultados obtenidos.

En la Figura 53a, se muestra la sorción del  $\text{Mn}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$  por el material zeolítico modificado con plata y reducida por extracto de toronja. El  $\text{Mn}^{2+}$  es sorbido por el material zeolítico de manera proporcional con respecto al tiempo, a diferencia del  $\text{Fe}^{3+}$  el cual también es sorbido por el material zeolítico dentro de la primera hora, pero a partir de este tiempo se desorbe de dicho material, posiblemente por las características del catión ya antes mencionadas y por la complejidad de equilibrar las cargas dentro de la red cristalina de la zeolita, ya que cada ion  $\text{Fe}^{3+}$  se tiene que intercambiar con 3 iones  $\text{Na}^+$  o  $\text{Ag}^+$  y el  $\text{Mn}^{2+}$  con 2 de dichos iones.

El comportamiento del material zeolítico modificado con plata y reducida con plasma, presenta una tendencia similar para ambas especies metálicas ( $\text{Mn}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$ ). Este comportamiento muestra, que el acondicionamiento del material zeolítico con los iones  $\text{Ag}^+$  o  $\text{Ag}^0$ , no impide que se lleve a cabo el proceso de sorción de las especies metálicas presentes en las soluciones acuosas (Figura 53b).



Es importante señalar, que la zeolita natural se acondicionó primero con una sal de NaCl para dar origen a la zeolita en su forma sódica y posteriormente dicha zeolita se acondicionó con AgNO<sub>3</sub>, para obtener a la zeolita modificada con plata iónica (ZAgiónica). Posteriormente, debido a los tratamientos de la ZAgiónica con el sumo de toronja o por la irradiación con plasma, se obtuvieron las zeolitas naturales con nanopartículas de plata. Sin embargo, la eficiencia de los procesos no se lleva a cabo al 100 %, es por ello que se tiene Ag<sup>0</sup> y Ag<sup>+</sup> contenida en la ZAgnpT y ZAgnpP. Por lo que, tanto Na<sup>+</sup> como Ag<sup>+</sup>, juegan un papel en los mecanismos de intercambio iónico con el Mn<sup>2+</sup> y Fe<sup>3+</sup> presentes en el agua (ya sea agua desionizada o agua de pozo) y a la cual se le adicionó sales de estos iones.

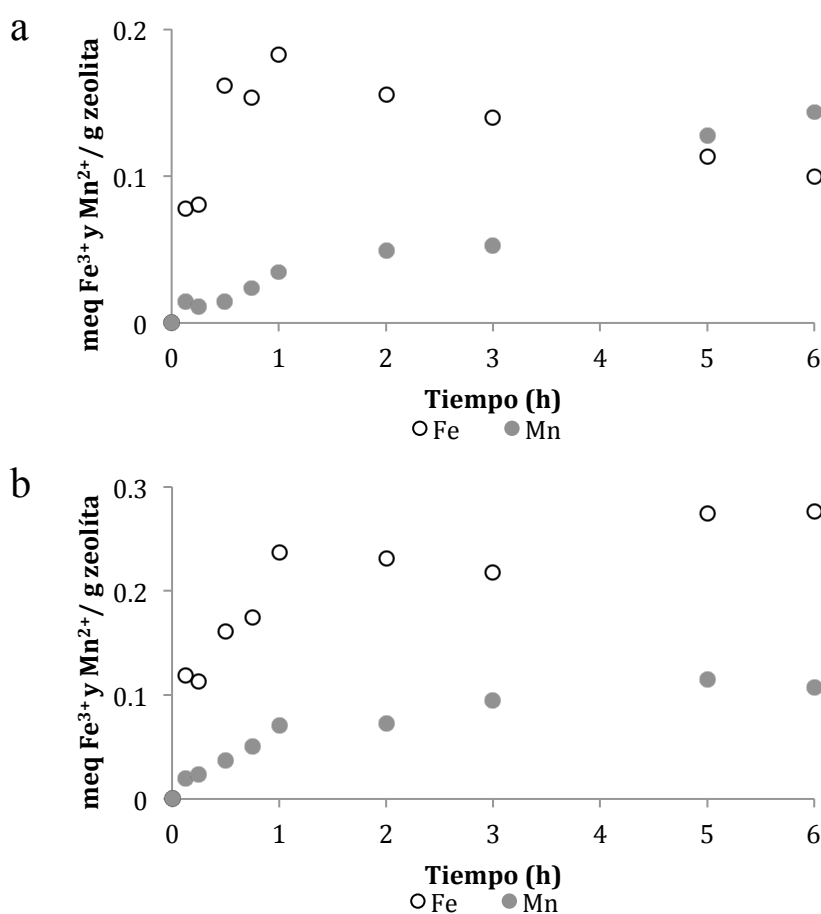


Figura 53. Sorción de hierro y manganeso por el material zeolítico ZAgnpT(a) y ZAgnpP(b) con respecto al tiempo y el consorcio en agua desionizada (100 mL) con Fe<sup>3+</sup> y Mn<sup>2+</sup>.

## 6.8 Caracterización del agua de pozo San Andrés Cuexcontitlán de Hidalgo

### 6.8.1 Sitio de muestreo

San Andrés Cuexcontitlán de Hidalgo, es un municipio de la Ciudad de Toluca el cual cuenta con un clima subhúmedo con lluvias en verano y otoño. Esto ha permitido que se desarrollen bordos, los cuales actualmente son empleados para riego. El Organismo de Agua y Saneamiento de Toluca, actualmente abastece esa región de la población municipal mediante 3 pozos rurales. De ellos, el denominado “Barrio Panteón Cuexcontitlán”, ubicado en las inmediaciones de la Subdelegación de San Diego de los Padres de Cuexcontitlán (Plan de Desarrollo Municipal 2016- 2018), fue objeto de interés para la presente investigación. Este pozo (Figura 54) se encuentra protegido por un cercado, el cual evita la entrada de fauna que pueda contaminar el área. La toma de la muestra de agua, se llevó a cabo el día 30 de enero del 2017 a las 11:30 h.



Figura 54. Pozo de abastecimiento ubicado en el “Barrio Panteón Cuexcontitlán”.

### 6.8.2 Caracterización microbiológica

De acuerdo con la NOM-127-SSA1-1994, se establece que en una muestra de agua la presencia de coliformes totales debe ser cero o no detectables en 100 mL de agua; asimismo para coliformes fecales, lo cual indica calidad sanitaria en general. En la muestra de agua obtenida del pozo del Barrio Panteón Cuexcontitlán, la concentración de

coliformes totales y coliformes fecales fue no detectable (Tabla 18). Durante las pruebas microbiológicas también se detectó el crecimiento de bacterias heterótrofas (345 UFC/100 mL), sin embargo la Norma Oficial Mexicana ya antes mencionada, no considera un límite permisible debido a que su presencia indica la calidad microbiológica habitual del agua y en cuanto menor sea su concentración ( $<500$  UFC/100 mL) en el sistema de agua, este se mantendrá en optimas condiciones, ya que no incluye organismos de origen fecal o de contaminación humana (Pullés, 2014).

### ***6.8.3 Caracterización fisicoquímica***

Para la preservación de la calidad del agua para uso y consumo humano, se han establecido límites permisibles para determinar el contenido máximo de contaminantes ya sean químicos o agentes infecciosos, que puedan causar efectos nocivos a la salud humana (NOM-127-SSA1-1994). A continuación se muestran los resultados obtenidos, de los componentes determinados en las muestras tomadas del pozo rural “Barrio Panteón Cuexcontitlán”, el límite máximo permisible de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana y se menciona si alguno de los valores obtenidos, superan este límite (Tabla 18).

Los parámetros fisicoquímicos están por debajo del límite máximo permisible por la NOM-041-SSA1-1993 y NOM-127-SSA1-1994, a excepción del manganeso ya que el máximo permitido es de  $0.15 \text{ mg.L}^{-1}$  y en la muestra se encontró una concentración de  $0.21 \pm 0.01 \text{ mg.L}^{-1}$ , por ello la importancia en la selección del área de estudio, ya que éste es uno de las dos especies metálicas de interés. En el caso del hierro, aunque el valor determinado ( $0.25 \pm 0.02 \text{ mg.L}^{-1}$ ) se encuentra por debajo del límite establecido de  $0.30 \text{ mg.L}^{-1}$ , está concentración sirvió como referencia para el presente trabajo. No obstante, estos valores fueron modificados para obtener  $5.0 \text{ mg.L}^{-1}$  de Fe y  $2.5 \text{ mg.L}^{-1}$  de Mg, con la intención de mejorar el límite de detección del equipo de Absorción Atómica.

Tabla 18. Parámetros fisicoquímicos determinados para agua de pozo y los límites máximos permisibles por la NOM-127-SSA1-1994 y NOM-041-SSA1-1993b.

Parámetro		Valor obtenido de la muestra	Limite Permisible NOM-127-SSA1-1994 <sup>a</sup> ; NOM-041-SSA1-1993 <sup>b</sup>	
Parámetros determinados en campo				
Temperatura	° C	20	Límite no establecido	---
Valor de pH		7.60±0.0	6.5-8.5 <sup>a</sup>	No supera la NOM
Conductividad eléctrica	μS/cm	275.3	Límite no establecido	---
Parámetros determinados en laboratorio				
Oxígeno disuelto (O <sub>2</sub> )	mg.L <sup>-1</sup>	4.04±0.2	Límite no establecido	---
Acidez como CaCO <sub>3</sub>	mg.L <sup>-1</sup>	2.0±0.0	Límite no establecido	---
Alcalinidad como CaCO <sub>3</sub>	mg.L <sup>-1</sup>	136±2	300.00 <sup>b</sup>	No supera la NOM
Dureza total	mg.L <sup>-1</sup>	88.7±1.4	200.00 <sup>a</sup>	No supera la NOM
Cloruros (Cl <sup>-</sup> )	mg.L <sup>-1</sup>	7.5	250.00 <sup>a</sup>	No supera la NOM
Sulfatos (SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> )	mg.L <sup>-1</sup>	<1	250.00 <sup>a</sup>	No supera la NOM
Nitratos (NO <sub>3</sub> )	mg.L <sup>-1</sup>	0.1±0.03	10.00 <sup>a</sup>	No supera la NOM
Nitritos (NO <sub>2</sub> )	mg.L <sup>-1</sup>	<0.03	0.05 <sup>a</sup>	No supera la NOM
Nitrógeno amoniacal (N-NH <sub>3</sub> )	mg.L <sup>-1</sup>	0.20±0.02	0.50 <sup>a</sup>	No supera la NOM
Nitrógeno total orgánico Kjeldahl	mg.L <sup>-1</sup>	0.20±0.02	0.10 <sup>b</sup>	No supera la NOM
Fósforo (P)	mg.L <sup>-1</sup>	0.37±0.0	Límite no establecido	---
Fluoruros (F <sup>-</sup> )	mg.L <sup>-1</sup>	0.37	0.70 <sup>a</sup>	No supera la NOM
Sólidos Disueltos Totales	mg.L <sup>-1</sup>	218.0±4.9	500.00 <sup>a</sup>	No supera la NOM
Hierro (Fe)	mg.L <sup>-1</sup>	0.25±0.02	0.30 <sup>a</sup>	No supera la NOM
Manganeso (Mn)	mg.L <sup>-1</sup>	0.21±0.01	0.15	Supera el límite máximo permisible
Calcio (Ca <sup>2+</sup> )	mg.L <sup>-1</sup>	15.02±0.98	Límite no establecido	---
Magnesio (Mg <sup>2+</sup> )	mg.L <sup>-1</sup>	13.33±0.75	Límite no establecido	---
Potasio (K <sup>+</sup> )	mg.L <sup>-1</sup>	2.39±0.15	Límite no establecido	---
Sodio (Na <sup>+</sup> )	mg.L <sup>-1</sup>	25.54±1.40	200.00 <sup>a</sup>	No supera la NOM
Coliformes Totales	UFC/100 mL	0	Cero <sup>a</sup>	No supera la NOM

#### 6.9 Constantes cinéticas de desinfección para el consorcio *E. coli* - *E. faecalis* - *C. albicans* en agua de pozo y desorción de Ag<sup>+</sup>

Una vez caracterizada el agua de pozo se llevaron a cabo las pruebas de desinfección de los microorganismos en consorcio frente a los materiales zeolíticos ZNa, ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP en el agua de interés.

### 6.9.1 Efecto del material zeolítico sódico sobre el consorcio en agua de pozo

Como se puede observar en la Tabla 18, el agua de pozo presenta un contenido diverso de elementos y compuestos. Las concentraciones presentes en el agua no superan los límites máximos permisibles, sin embargo, la calidad que le otorgan al agua afecta el crecimiento del consorcio microbiano, aún en presencia del material zeolítico sódico, ya que este material no presenta ninguna actividad desinfectante, como se mencionó anteriormente. En la Figura 55 se puede observar una sobrevivencia de 0 % a 2 horas para *E. coli* y *C. albicans* y de 5 horas para *E. faecalis*. Por ello, la composición general del agua de pozo y la interacción con el material zeolítico sódico, no favoreció la sobrevivencia del consorcio microbiano.

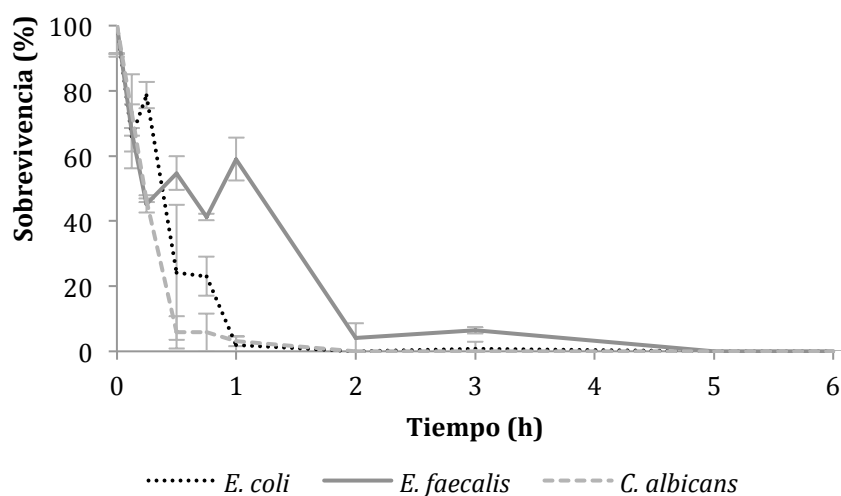


Figura 55. Sobrevivencia del consorcio *E. coli*- *E. faecalis*- *C. albicans* en agua de pozo (100 mL) frente a ZNa (20 mg).

## **6.9.2 Cinéticas de desinfección para el consorcio en agua de pozo y desorción de la $Ag^+$ de los materiales zeolíticos**

### **6.9.2.1 Cinéticas de desinfección**

En la Figura 56, se observa los porcentajes de sobrevivencia de los materiales zeolíticos frente al consorcio microbiano en agua de pozo. Los tiempos de desinfección se reducen en comparación con el material ZNa. Sin embargo, nuevamente es *E. faecalis* (Figura 56 b) quien presenta un mayor tiempo de tolerancia al contacto con los materiales zeolíticos modificados con plata (siendo de 1 h), mientras que *E. coli* (Figura 56 a) presenta 0 % de sobrevivencia después de 30 min de contacto con los materiales zeolíticos y *C. albicans* de 15 min (Figura 56 c). Por lo que la química del agua promueve además la desinfección, debido probablemente a la interacción de los iones presentes como calcio y potasio con la red cristalina de la zeolita, promoviendo el intercambio iónico y por consecuencia, la cantidad de iones  $Na^+$  y  $Ag^+$  en el medio acuoso se incrementa.

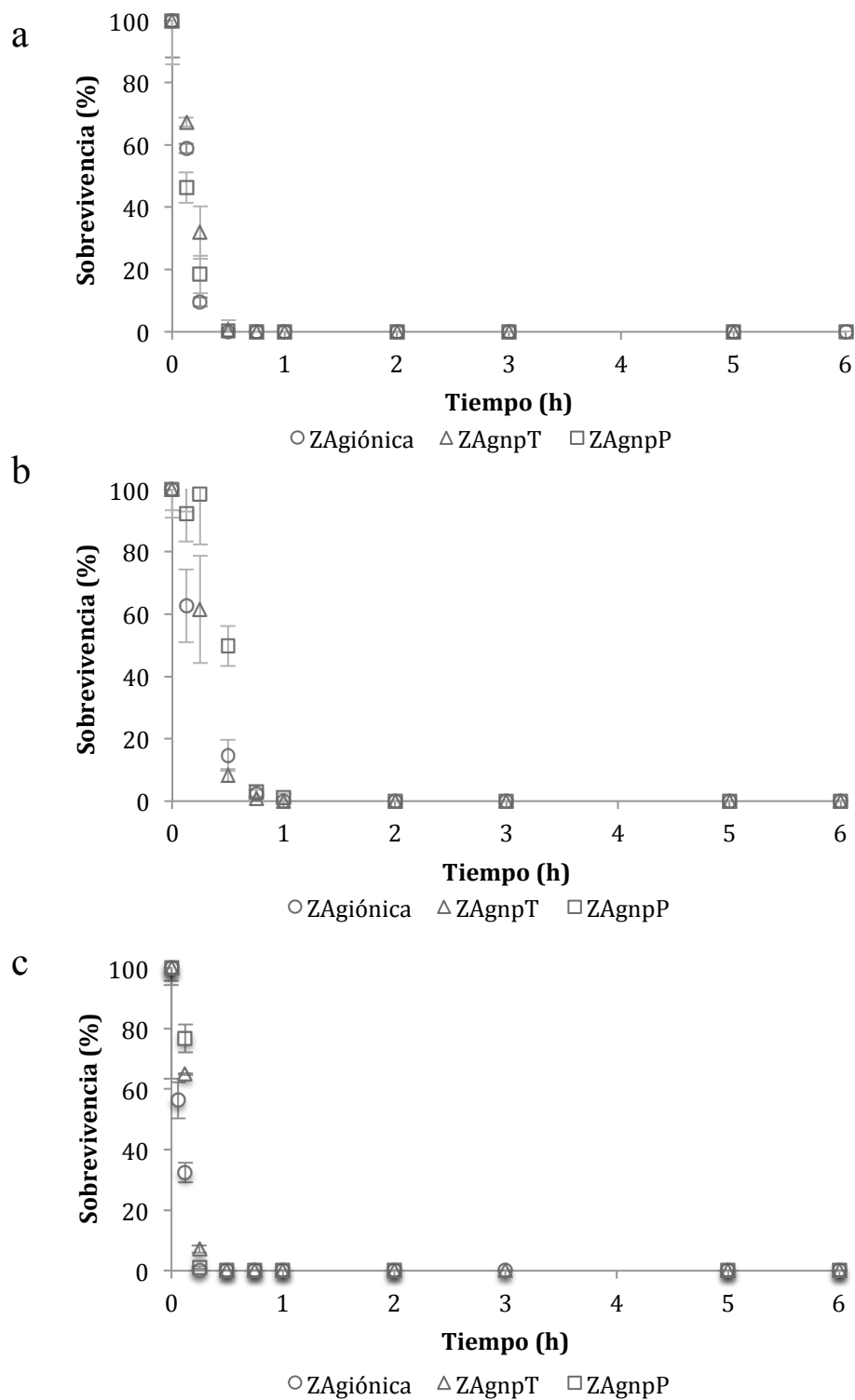


Figura 56. Sobrevivencia del consorcio de *E. coli* (a), *E. faecalis* (b) y *C. albicans* (c) en agua de pozo (100 mL) frente a ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP (20 mg).

En la Tabla 19 se muestran las constantes de decaimiento celular obtenidas del modelo de Chick o Chick modificado, también se muestra el tiempo de inhibición total y en donde sea el caso, el tiempo de latencia. La *Escherichia coli* en contacto con los materiales zeolíticos, presenta cinéticas de desinfección de primer orden, sin un periodo de latencia. Para ZAgnpP la inhibición total se alcanzó a las 0.5 h, a una velocidad de decaimiento celular de  $8.407 \text{ h}^{-1}$  (Figura 57 a), mientras que con ZAgiónica la velocidad de decaimiento celular fue ligeramente menor, pero el tiempo de inhibición total fue también a las 0.5 h de contacto. Sin embargo, ZAgnpT requiere 0.75 h de contacto para la inhibición total. La constante cinética de desinfección para *E. coli* presenta el orden siguiente:

$$k_{\text{ZAgnpP}} > k_{\text{ZAgiónica}} > k_{\text{ZAgnpT}}$$

*E. faecalis* muestra tiempos de desinfección de entre 1 y 2 horas en comparación con la bacteria Gram negativa y la levadura, por lo cual la inhibición total se llevó a cabo dentro de la primera hora. La ZAgnpT ( $k = 7.858 \text{ h}^{-1}$ ) (Figura 57 b) requirió 1 h de contacto con el material zeolítico y con un  $t_{\text{lat}}$  de 0.125 h. La ZAgiónica ( $k = 4.561 \text{ h}^{-1}$ ) requirió que la *E. faecalis* estuviera 1 h de contacto, para la inhibición total y al material zeolítico ZAgnpP ( $k = 6.555 \text{ h}^{-1}$ ) le tomó 2 h de contacto con un  $t_{\text{lat}}$  de 0.25 h. La ZAgnpT tuvo una velocidad de decaimiento celular más rápida (Tabla 17). El tiempo para la inactivación total por los materiales zeolíticos para *E. faecalis* presenta el orden siguiente:

$$t_{\text{rZAgnpP}} > t_{\text{rZAgnpT}} = t_{\text{rZAgiónica}}$$

La *C. albicans*, en contacto con los materiales zeolíticos, presentó una constante de decaimiento celular de  $9.115 \text{ h}^{-1}$  con ZAgiónica, con un tiempo de inhibición total de 0.25 h. La ZAgnpP ( $k = 14.98 \text{ h}^{-1}$ ) (Figura 57c) con 0.5 h de contacto y ZAgnpT ( $k = 9.115 \text{ h}^{-1}$ ) con 0.5 h de contacto, para lograr la inhibición total, de dicho microorganismo. Siendo el material zeolítico de plata reducida con plasma, el que obtuvo la velocidad de decaimiento celular mayor (Tabla 17). La constante cinética de desinfección, obtenida del modelo de Chick no modificado por no presentar tiempo de latencia para *C. albicans*, sigue el orden similar al observado en *E. coli*.



Es importante recordar que uno de los factores por los que el proceso de desinfección se lleva a cabo con mayor rapidez, es por la química propia del agua.

Tabla 19. Parámetros del proceso de desinfección para el consorcio de microorganismos en agua de pozo frente a los materiales zeolíticos ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP.

Material Zeolítico	Inhibición total $t_f(h)$	Constante cinética de desinfección (modelo de Chick o Chick modificado)			[Ag] al $t_f(h)$  $mg \cdot L^{-1}$	Constante cinética de desorción <sup>a</sup> <i>Higuchi</i> , <sup>b</sup> <i>Korsmeyer- Peppas</i>		
		$k(h^{-1})$	$t_{lat} (h)$	$R^2$		$k(h^{\frac{1}{2}})^a$ ; $k(h^{-n})^b$	$R^2$	n
<b>Microorganismo</b>								
<i>Escherichia coli</i>								
ZAgiónica	0.5	8.375	*	0.89	0.1±0.01	ZAgiónica (consorcio)		
ZAgnpT	0.75	8.084	*	0.896	0.1±0.01	0.0183 <sup>b</sup>	0.909	0.399
ZAgnpP	0.5	8.601	*	0.967	0.1±0.04			
<i>Enterococcus faecalis</i>								
ZAgiónica	1	4.561	*	0.974	0.15±0.01	ZAgnpT (consorcio)		
ZAgnpT	1	7.858	0.125	0.987	0.12±0.01	0.0176 <sup>b</sup>	0.7953	0.555
ZAgnpP	2	6.555	0.25	0.939	0.18±0.01			
<i>Candida albicans</i>								
ZAgiónica	0.25	9.115	*	0.998	0.07±0.01	ZAgnpP (consorcio)		
ZAgnpT	0.5	9.115	*	0.842	0.06±0.02	0.0179 <sup>b</sup>	0.8737	0.577
ZAgnpP	0.5	14.98	*	0.752	0.1±0.04			

\* $t_{lat}$  - No se observó periodo de latencia ^ n=0.5

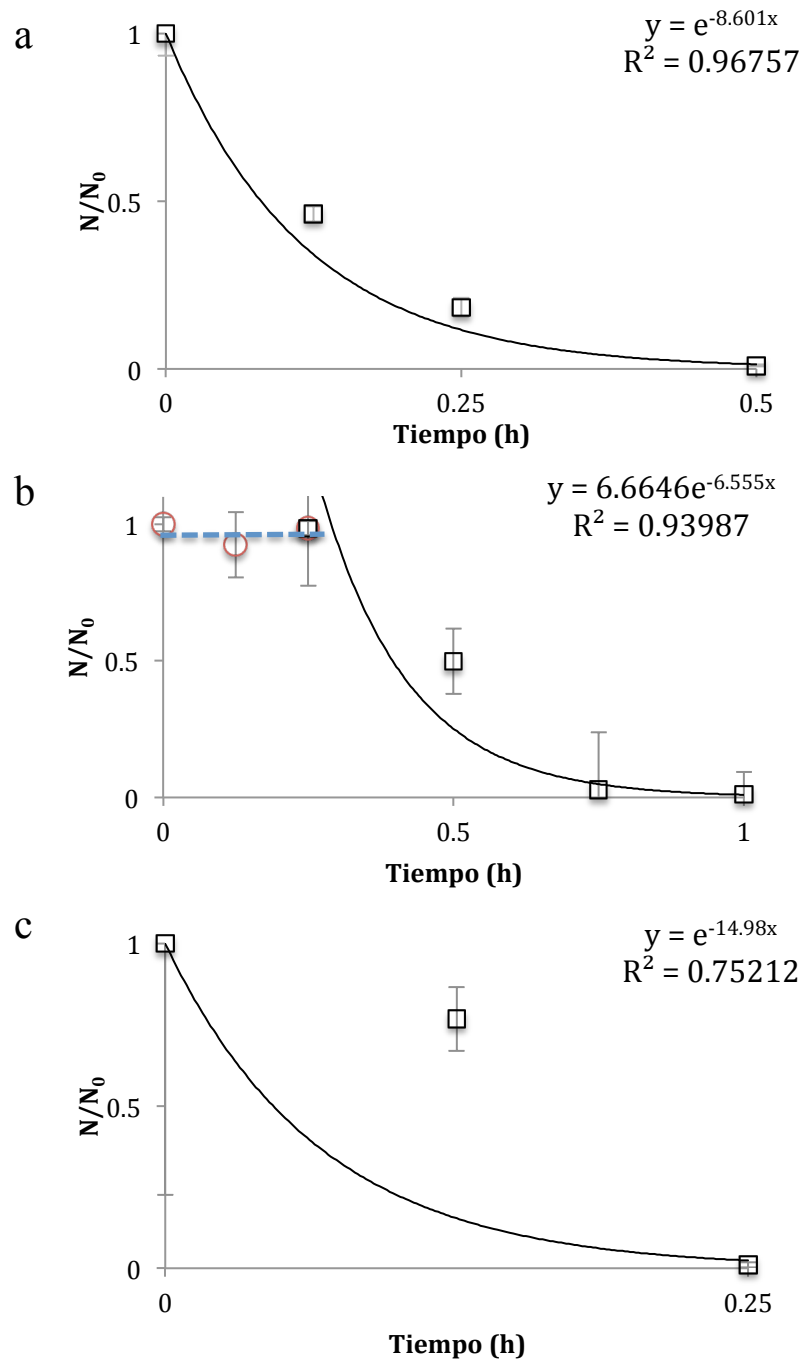


Figura 57. Cinética de desinfección de *E. coli* (a), *E. faecalis* (b) y *C. albicans* (c) en consorcio y agua de pozo (100 mL) frente a ZAgnpP (20 mg). ○ y ---  $t_{lat}$  (fase de latencia)  
 □ Inicio del proceso cinético de desinfección.

### 6.9.2.2 Cinéticas de desorción

#### 6.9.2.2.1 Desorción de $\text{Na}^+$

Se determinó la concentración de sodio desorbido por la ZNa al estar en contacto con el consorcio microbiano en el agua de pozo. Como se puede observar en la Figura 58, inicialmente el agua de pozo presenta una concentración de  $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y posterior a las 6 horas de contacto con el material zeolítico sódico, se observa una aportación por parte de éste de  $1.33 \pm 0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . La concentración aportada al medio acuoso es menor, a la que se presentó en el agua desionizada en presencia de  $\text{Mn}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$ , por el material zeolítico sódico (Tabla 20). La diferencia en el aporte de sodio por la ZNa entre un medio acuoso y agua de pozo, puede ser debido a los componentes presentes en el agua, ya que como se mencionó en la Tabla 16, el agua de pozo presenta cationes con los que interactúa el material zeolítico y equilibran las cargas de la red cristalina.

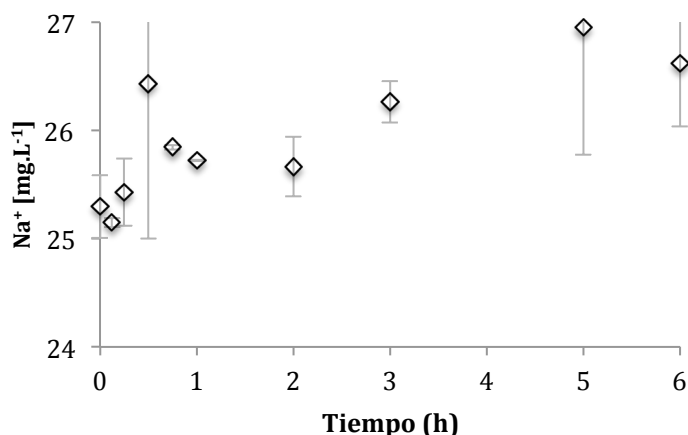


Figura 58. Desorción del  $\text{Na}^+$  por el material ZNa (20 mg) con respecto al tiempo y el consorcio en agua de pozo (100 mL), como microorganismos de prueba.

#### 6.9.2.2.2 Desorción de $\text{Ag}^+$

En la Tabla 20 se presenta la concentración de plata iónica desorbida por los materiales zeolíticos. La difusión de la plata al medio acuoso por los materiales zeolíticos (ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP), supera el límite máximo permitido por la norma oficial mexicana vigente (0.05 mg/L). La concentración de plata presente en el agua, aumenta con

respeto al tiempo mientras que la sobrevivencia de los microorganismos disminuye (Figura 57). En la Figura 59 se muestra, la concentración inicial de Ag al tiempo 0 h y una concentración máxima a las 6 h de contacto de  $0.32 \pm 0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  para el material ZAgiónica. La desorción de plata iónica por cualquiera de los materiales zeolíticos a 6 h de tiempo de contacto en el agua de pozo, es menor comparada con las concentraciones de  $\text{Ag}^+$  desorbida en el agua desionizada con presencia de hierro y manganeso, esto puede ser debido a la naturaleza del agua de pozo rica en iones que interactúan equilibrando las cargas del material zeolítico. Se observa además, que a concentraciones menores de plata, la desinfección del agua fue rápida.

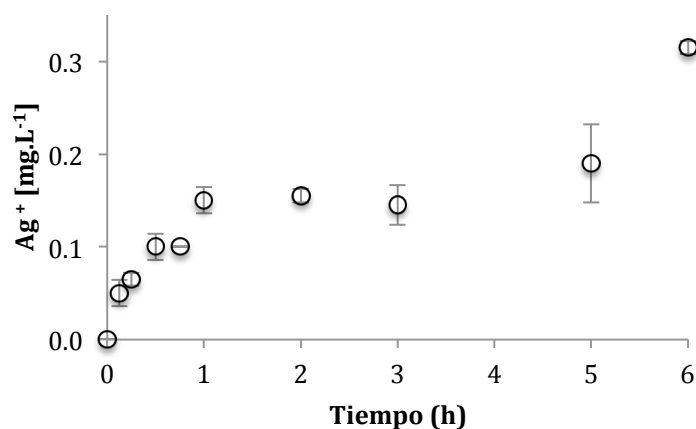


Figura 59. Desorción de la  $\text{Ag}^+$  por el material ZAgiónica (20 mg) en agua de pozo (100 mL) con respecto al tiempo y el consorcio como microorganismos de prueba.

En la Tabla 20, también se muestra la concentración de  $\text{Ag}^+$  desorbida y el ajuste de los datos experimentales a los modelos cinéticos de difusión. La desorción de la plata se ajustó al modelo cinético de *Korsmeyer- Peppas* para los tres materiales zeolíticos con un valor de  $n$  entre 0.399 y 0.577 (ver gráficos, Anexo 6, E). Cuando  $n$  está cercano a 0.5 indica que la liberación de la  $\text{Ag}^+$  sigue un mecanismo de difusión de Fick y la difusión es el principal mecanismo implicado y cuando  $n$  se encuentra entre 0.5 y 1 el mecanismo de liberación de la  $\text{Ag}^+$  implica procesos combinados el de difusión y una difusión anómala, derivada en este caso particular por las características estructurales de la zeolita natural tipo clinoptilolita (Aragón et al., 2009).

En la Figura 60 se muestran los parámetros de la cinética del modelo de Korsmeyer-Peppas. Para la ZAgiónica la  $k = 0.183 \text{ h}^{-n}$ , para ZAgnpP la  $k = 0.0179 \text{ h}^{-n}$  y para ZAgnpT la  $k = 0.0176 \text{ h}^{-n}$ . La ZAgiónica muestra un valor de  $k$  mayor, con respecto a los otros materiales zeolíticos (ZAgnpT, ZAgnpP), como se aprecia en la Tabla 19.

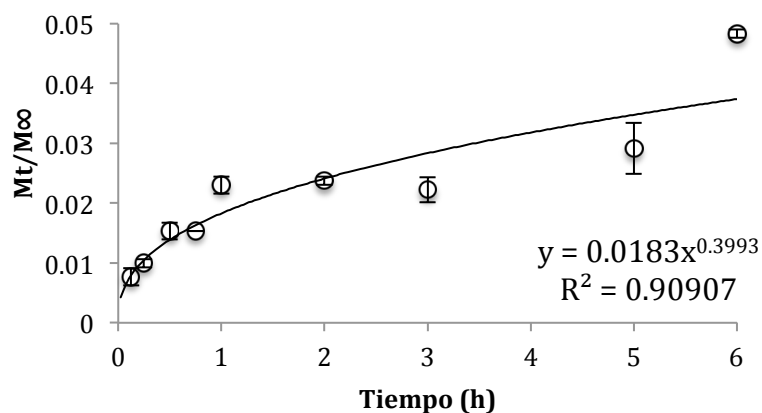


Figura 60. Modelo de *Korsmeyer- Peppas* aplicado a la desorción de la plata por el material ZAgiónica (20 mg), considerando al consorcio en agua de pozo (100 mL), como microorganismos de prueba.

Tabla 20. Concentración de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Ag}^+$  ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) desorbidos y remoción de Fe y Mn ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) por los materiales zeolíticos ZNa, ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP en agua de pozo, el consorcio como microorganismos de prueba.

**Agua de pozo**

$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	Tiempo (h)									
	0	0.125	0.25	0.5	0.75	1	2	3	5	6
ZNa [ $\text{Na}^+$ ]	25.50±0.29	25.35±0.04	25.63±0.31	27.64±1.44	26.05±0.02	25.93±0.01	25.87±0.28	26.47±0.28	27.16±0.28	26.83±0.19
ZNa [Mn]	0.18±0.01	0.19±0.01	0.19±0.001	0.19±0.01	0.19±0.001	0.18±0.01	0.19±0.01	0.18±0.01	0.2±0.01	0.19±0.01
ZNa [Fe]	0.18±0.001	0.19±0.001	0.20±0.004	0.24±0.04	0.30±0.13	0.21±0.01	0.21±0.04	0.245±0.02	0.2±0.03	0.29±0.15
ZAgiónica [ $\text{Na}^+$ ]	25.26±0.04	25.47±0.25	25.56±0.22	26.25±0.23	26.29±0.95	26.16±0.38	26.27±0.15	26.18±0.02	26.48±0.42	26.4±0.31
ZAgiónica [ $\text{Ag}^+$ ]	0	0.05±0.01	0.07±0.01	0.1±0.01	0.1±0.01	0.15±0.01	0.16±0.01	0.15±0.02	0.19±0.04	0.32±0.01
ZAgiónica [Mn]	0.21±0.01	0.20±0.01	0.19±0.01	0.19±0.02	0.19±0.01	0.20±0.001	0.19±0.01	0.18±0.01	0.19±0.03	0.19±0.001
ZAgiónica [Fe]	0.30±0.01	0.23±0.001	0.19±0.01	0.20±0.02	0.31±0.13	0.19±0.01	0.22±0.01	0.27±0.08	0.24±0.04	0.22±0.04
ZAgnpT [ $\text{Na}^+$ ]	26.05±0.29	22.55±0.29	19.59±4.16	25.65±8.37	25.81±0.04	26.05±0.41	26.37±0.52	30.33±0.45	26.09±5.64	25.97±0.24
ZAgnpT [ $\text{Ag}^+$ ]	0	0.04±0.01	0.05±0.01	0.06±0.02	0.1±0.01	0.12±0.01	0.14±0.001	0.08±0.07	0.25±0.04	0.48±0.04
ZAgnpT [Mn]	0.21±0.01	0.21±0.01	0.21±0.001	0.21±0.001	0.21±0.001	0.21±0.01	0.21±0.001	0.21±0.01	0.20±0.001	0.21±0.001
ZAgnpT [Fe]	0.22±0.02	0.93±0.01	0.20±0.001	0.20±0.01	0.22±0.04	0.20±0.001	0.21±0.02	0.22±0.04	0.19±0.001	0.23±0.07
ZAgnpP [ $\text{Na}^+$ ]	25.29±0.31	25.78±0.12	25.51±0.18	25.65±0.15	27.00±1.77	25.84±0.04	25.59±0.48	26.12±0.35	26.0±0.19	26.34±0.11
ZAgnpP [ $\text{Ag}^+$ ]	0	0.03±0.01	0.04±0.01	0.1±0.04	0.15±0.07	0.11±0.01	0.18±0.01	0.21±0.01	0.28±0.02	0.21±0.04
ZAgnpP [Mn]	0.20±0.01	0.21±0.001	0.21±0.001	0.21±0.001	0.20±0.001	0.21±0.01	0.20±0.001	0.20±0.01	0.20±0.001	0.21±0.001
ZAgnpP [Fe]	0.18±0.01	0.34±0.21	0.29±0.16	0.17±0.001	0.18±0.01	0.23±0.06	0.17±0.01	0.18±0.01	0.17±0.001	0.53±0.28

#### 6.9.2.2.3 Remoción de Fe y Mn del agua de pozo

Una vez evaluado el proceso de desinfección y de desorción de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Ag}^+$  de los materiales zeolíticos, se evaluó la remoción del hierro y el manganeso contenido de manera natural en el agua de pozo.

Los materiales zeolíticos en este sistema, muestran una menor capacidad de remoción de Fe y Mn, lo que probablemente se deba, a la especiación química que cada uno de ellos presenta en este medio. Es probable que las especies presentes no sean  $\text{Fe}^{3+}$  ni  $\text{Mn}^{2+}$ , ya que de ser así tendrían un comportamiento de remoción similar, a lo encontrado para agua desionizada con estas especies metálicas. En la Tabla 21, se muestra la concentración tanto de Mn como de Fe con respecto al tiempo de contacto con los materiales zeolíticos. La concentración aparentemente se mantiene constante durante las 6 horas de contacto, esto implica que la competencia entre los cationes presentes en el agua ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Na}^+$ ) no intervienen en el proceso de desinfección pero si son determinantes en el proceso de remoción del hierro y manganeso presente en el agua de pozo, ya que la especiación química juega un papel importante debido a la competencia entre los iones y por ende a la selectividad de los materiales zeolíticos por unos u otros cationes. Como un ejemplo de ello, se muestra el comportamiento de la remoción del Fe y Mn por la ZAgnpT (Figura 61).

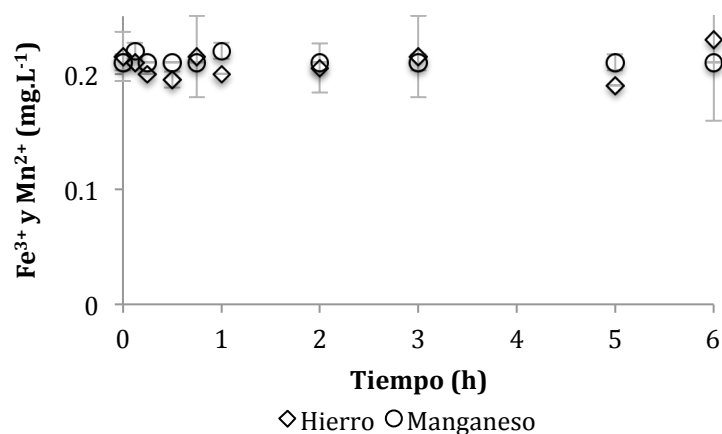


Figura 61. Remoción del hierro y manganeso por ZAgnpT (20 mg) con respecto al tiempo y el consorcio en agua de pozo (100 mL), como microorganismos de prueba.

#### 6.9.2.2.4 Capacidad de sorción de Fe y Mn en agua de pozo

Debido a la competencia de los cationes ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^{+}$  y  $\text{Na}^{+}$ ) y a la especiación química del Mn y Fe en el agua de pozo, se ven comprometidas las capacidades de remoción de los diferentes materiales zeolíticos. En la Figura 62 se muestra, que la sorción del hierro (0.006 meq/g) y el manganeso (0.002 meq/g) por el material zeolítico de plata reducido con toronja es muy pequeña. El manganeso permanece unido a la red cristalina en muy pequeña cantidad durante 3 horas y posteriormente se desorbe y para el hierro es un comportamiento similar, lo que implica su labilidad de ambos y la competencia que establecen con otras especies catiónicas, por los sitios ubicados en la estructura zeolítica.



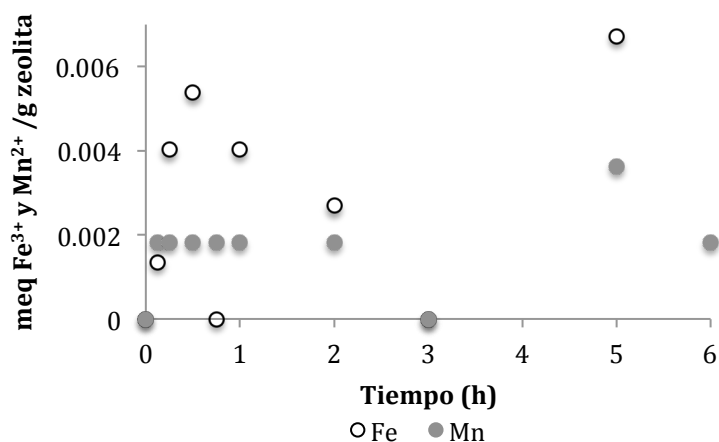


Figura 62. Sorción de hierro y manganeso por ZAgnpT (20 mg) con respecto al tiempo y el consorcio en agua de pozo (100 mL), como microorganismos de prueba.

#### 6.10 Constantes cinéticas de desinfección para el consorcio *E. coli* - *E. faecalis* - *C. albicans* en agua de pozo con $\text{Fe}^{3+}$ y $\text{Mn}^{2+}$ adicionado y desorción de $\text{Ag}^+$

El agua de pozo presenta una concentración inicial de  $\text{Fe}^{3+}$  de  $0.25 \pm 0.02 \text{ mg.L}^{-1}$  y de  $0.21 \pm 0.01 \text{ mg.L}^{-1}$  de  $\text{Mn}^{2+}$ . Con base en estos resultados, se realizaron los ajustes necesarios para adecuar la concentración establecida de ambos metales a 5 mg/L para  $\text{Fe}^{3+}$  y 2.5 mg/L para  $\text{Mn}^{2+}$ , como interferentes. Posteriormente se llevaron a cabo las pruebas de desinfección para los microorganismos en consorcio en agua de pozo, frente a los materiales zeolíticos ZNa, ZAgónica, ZAgnpT y ZAgnpP.

##### 6.10.1 Efecto del material zeolítico sódico sobre el consorcio en agua de pozo con $\text{Fe}^{3+}$ y $\text{Mn}^{2+}$ adicionado

Los componentes del agua de pozo aunado al  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$  adicionados, promovieron la inhibición de los microorganismos en este medio, reduciendo su sobrevivencia a 0%, a las 5 h de contacto para *E. coli* y *E. faecalis* y se presenta una fase de latencia, en ambos casos de 30 minutos. Este tiempo de latencia de ambos microorganismos, fue distinto para el agua de pozo sin la adición de  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$ . En el

caso de *C. albicans*, el efecto desinfectante prevalece y es inclusive más eficiente en presencia del  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$  adicionados. En este último caso, la sobrevivencia se redujo a 1 hora. Estos resultados muestran la sensibilidad de *C. albicans* a los componentes del medio acuoso, que se traduce en la calidad del agua. El caso contrario fue para las bacterias, las cuales se adaptan con mayor facilidad a diversos ambientes (Figura 63). El material ZNa, presenta alta inactivación en los sistemas en donde se empleó agua de pozo ya sea en ausencia o presencia del Fe o Mn, considerados en la presente investigación como los interferentes objeto de estudio.

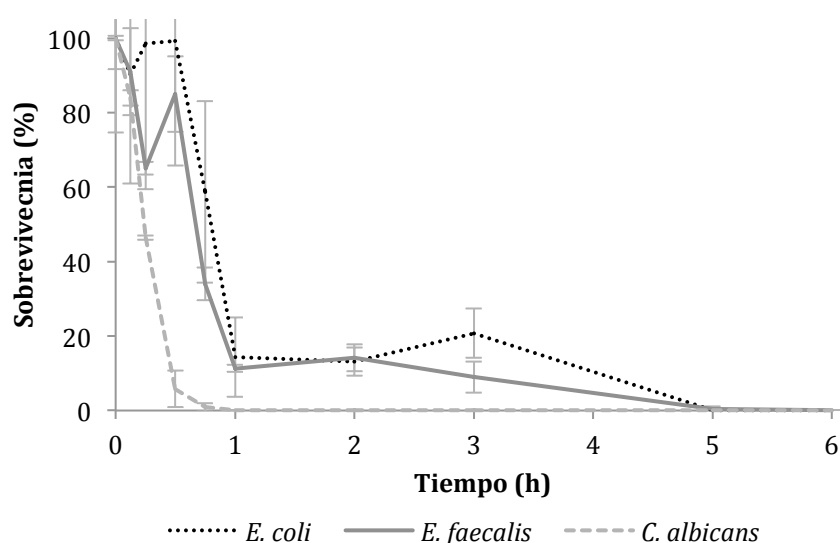


Figura 63. Sobrevivencia del consorcio de *E. coli*, *E. faecalis*, *C. albicans* en agua de pozo (100 mL) con  $\text{Fe}^{+3}$  y  $\text{Mn}^{2+}$  adicionado, frente a ZNa (20 mg).

#### 6.10.2 Cinéticas de desinfección para el consorcio en agua de pozo con $\text{Fe}^{3+}$ y $\text{Mn}^{2+}$ adicionado y desorción de la $\text{Ag}^+$ de los materiales zeolíticos

##### 6.10.2.1 Cinéticas de desinfección

En la Figura 64, se muestran los porcentajes de sobrevivencia del consorcio microbiano en el agua de pozo con  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$  adicionado frente a los materiales zeolíticos. Los tiempos de desinfección se reducen, en comparación con el material ZNa (Figura 63). Los componentes del agua tienen un efecto negativo sobre la sobrevivencia de los microorganismos, ya que al poner en contacto los materiales zeolíticos con el consorcio

*E. coli* (Figura 64a), *E. faecalis* (Figura 64b) y *C. albicans* (Figura 64c), se reduce el tiempo de la desinfección, pero se incrementa notablemente la concentración de Ag en el agua. Los materiales zeolíticos con plata iónica (ZAgiónica) y reducida (ZAgnpT y ZAgnpP), interactúan con los cationes presentes en el agua de pozo, además con el  $\text{Fe}^{3+}$  y el  $\text{Mn}^{2+}$  adicionados, promoviendo la difusión de los iones  $\text{Ag}^+$ , al medio acuoso.

Tabla 21. Parámetros del proceso de desinfección para el consorcio de microorganismos en agua de pozo con  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$  adicionado frente a los materiales zeolíticos ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP.

Material Zeolítico	Inhibición total $t_f(\text{h})$	Constante cinética de desinfección (modelo de Chick o Chick modificado)			[Ag] al $t_f(\text{h})$ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	Constante cinética de desorción <sup>a</sup> <i>Higuchi</i> , <sup>b</sup> <i>Korsmeyer- Peppas</i>		
		$k(\text{h}^{-1})$	$t_{lat}(\text{h})$	$R^2$		$k(h^{-\frac{1}{2}})^a$ ; $k(h^{-n})^b$	$R^2$	n
<b>Microorganismo</b>								
<i>Escherichia coli</i>								
ZAgiónica	0.75	7.231	*	0.886	0.13±0.01	ZAgiónica (consorcio)		
ZAgnpT	0.5	16.12	0.125	0.971	0.08±0.01	0.0183 <sup>b</sup>	0.886	0.388
ZAgnpP	0.5	8.109	*	0.901	0.1±0.02			
<i>Enterococcus faecalis</i>								
ZAgiónica	1	4.552	*	0.972	0.16±0.01	ZAgnpT (consorcio)		
ZAgnpT	0.75	7.801	0.125	0.982	0.09±0.08	0.0180	0.789	^
ZAgnpP	2	6.501	0.25	0.937	0.18±0.01			
<i>Candida albicans</i>								
ZAgiónica	0.25	23.7	*	0.882	0.06±0.01	ZAgnpP (consorcio)		
ZAgnpT	0.5	9.12	*	0.843	0.08±0.01	0.0193 <sup>b</sup>	0.947	0.553
ZAgnpP	0.5	15.17	*	0.759	0.1±0.02			

\* $t_{lat}$  - No se observó periodo de latencia    ^ n=0.5

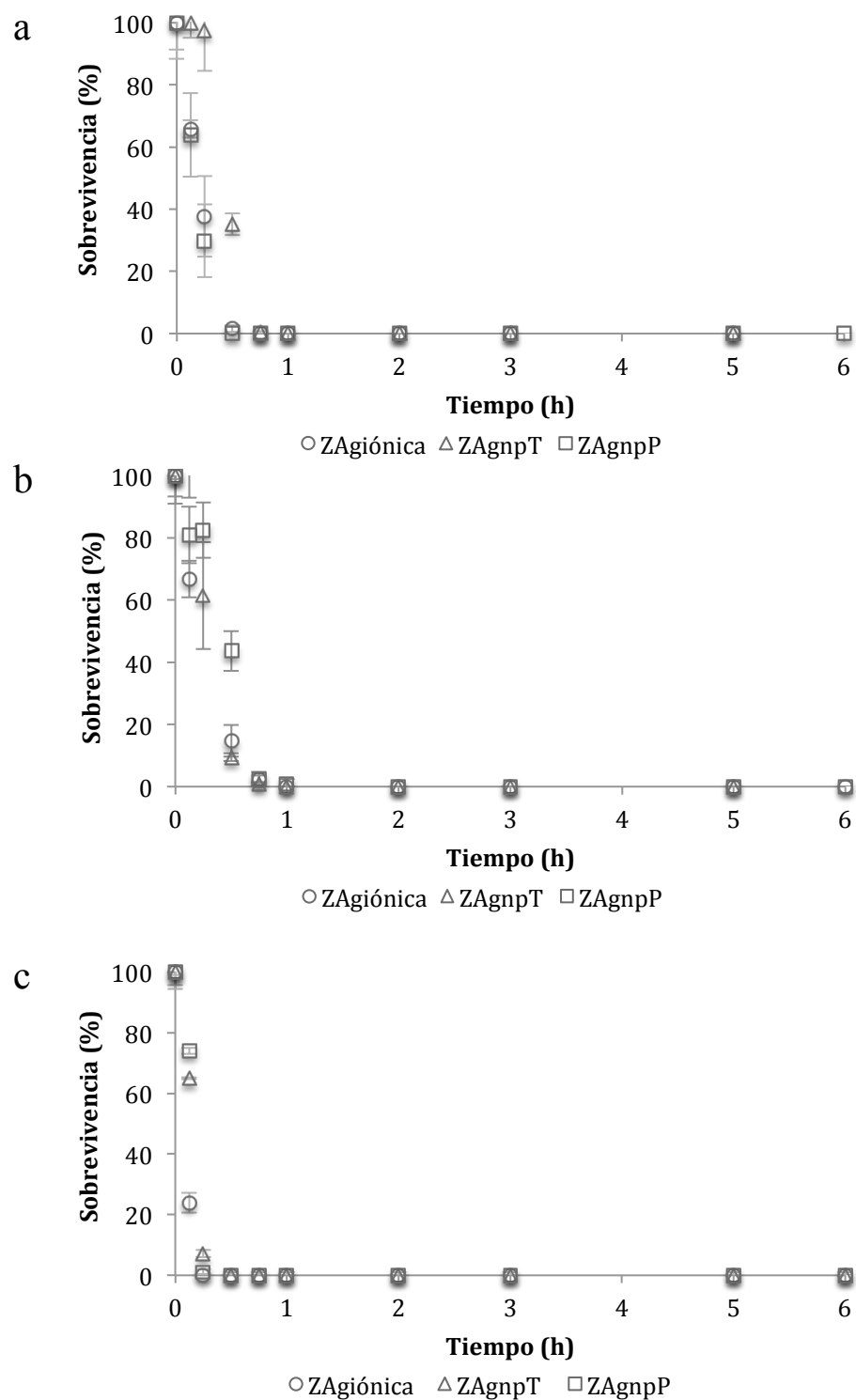


Figura 64. Sobrevivencia del consorcio de *E. coli* (a), *E. faecalis* (b) y *C. albicans* (c) en agua de pozo (100 mL) con  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$  adicionado, frente a ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP (20 mg).

Las constantes de decaimiento celular obtenidas del modelo matemático de Chick, se muestran en la Tabla 21, así como también los tiempos de inhibición total y el tiempo de latencia en donde sea el caso. La *Escherichia coli* en contacto con los materiales zeolíticos, presenta cinéticas de desinfección de primer orden. Para la ZAgnpP, el microorganismo (*E. coli*) alcanzó la inhibición total a las 0.5 h y mostró una velocidad de decaimiento celular de  $8.109 \text{ h}^{-1}$  (Figura 65a), mientras que para ZAgnpT la  $k$  fue igual a  $16.12 \text{ h}^{-1}$  y requirió de 0.5 h de contacto para la inhibición total similar al observado para la ZAgnpP, pero con un  $t_{lat}$  de 0.125 h. La ZAgiónica presentó un valor de  $k = 7.231 \text{ h}^{-1}$  y un tiempo de inhibición total a las 0.75 h. El tiempo total de desinfección para *E. coli* presenta el orden siguiente:

$$t_f ZAgiónica > t_f ZAgnpT = t_f ZAgnpP$$

Al comparar los valores del parámetro  $k$  del modelo de Chick no modificado, se tiene:

$$k_{ZAgnpP} > k_{ZAgiónica}$$

En cuanto a *E. faecalis*, se encontraron tiempos de desinfección entre 0.75 y 2 horas en comparación con la bacteria Gram negativa y la levadura, en donde la inhibición total se lleva a cabo dentro de los primeros 30 minutos. La ZAgnpT muestra una  $k = 7.801 \text{ h}^{-1}$  (Figura 65 b) y requirió 0.75 h de contacto con el sistema con un  $t_{lat}$  de 0.125 h. La ZAgiónica mostró un valor  $k = 4.552 \text{ h}^{-1}$  y 1 h de contacto para la inhibición total y no se observó un tiempo de latencia (Tabla 21). Con el material zeolítico ZAgnpP ( $k = 6.501 \text{ h}^{-1}$ ), la *E. faecalis* a las 2 h de tiempo de contacto, con un  $t_{lat}$  de 0.25 h, alcanzó la inhibición total. El tiempo total de desinfección para *E. faecalis* presenta el orden siguiente:

$$t_f ZAgnpP > t_f ZAgiónica > t_f ZAgnpT$$

La *C. albicans* en contacto con los materiales zeolíticos, presentó una constante de decaimiento celular de  $23.7 \text{ h}^{-1}$  con ZAgiónica y un tiempo de inhibición total de la levadura de 0.25 h (Figura 65c). Tanto la ZAgnpP ( $k = 15.17 \text{ h}^{-1}$ ) como la ZAgnpT ( $k = 9.12 \text{ h}^{-1}$ ) inhibieron totalmente a la levadura, a las 0.5 h de contacto. Siendo el material zeolítico

con plata iónica, el que obtuvo una velocidad de decaimiento celular más rápida (Tabla 21). Las constantes cinéticas de desinfección, obtenidas del modelo de Chick no modificado para *C. albicans*, presentan el orden siguiente:

$$kZ_{Agiónica} > kZ_{AgnpP} > kZ_{AgnpT}$$

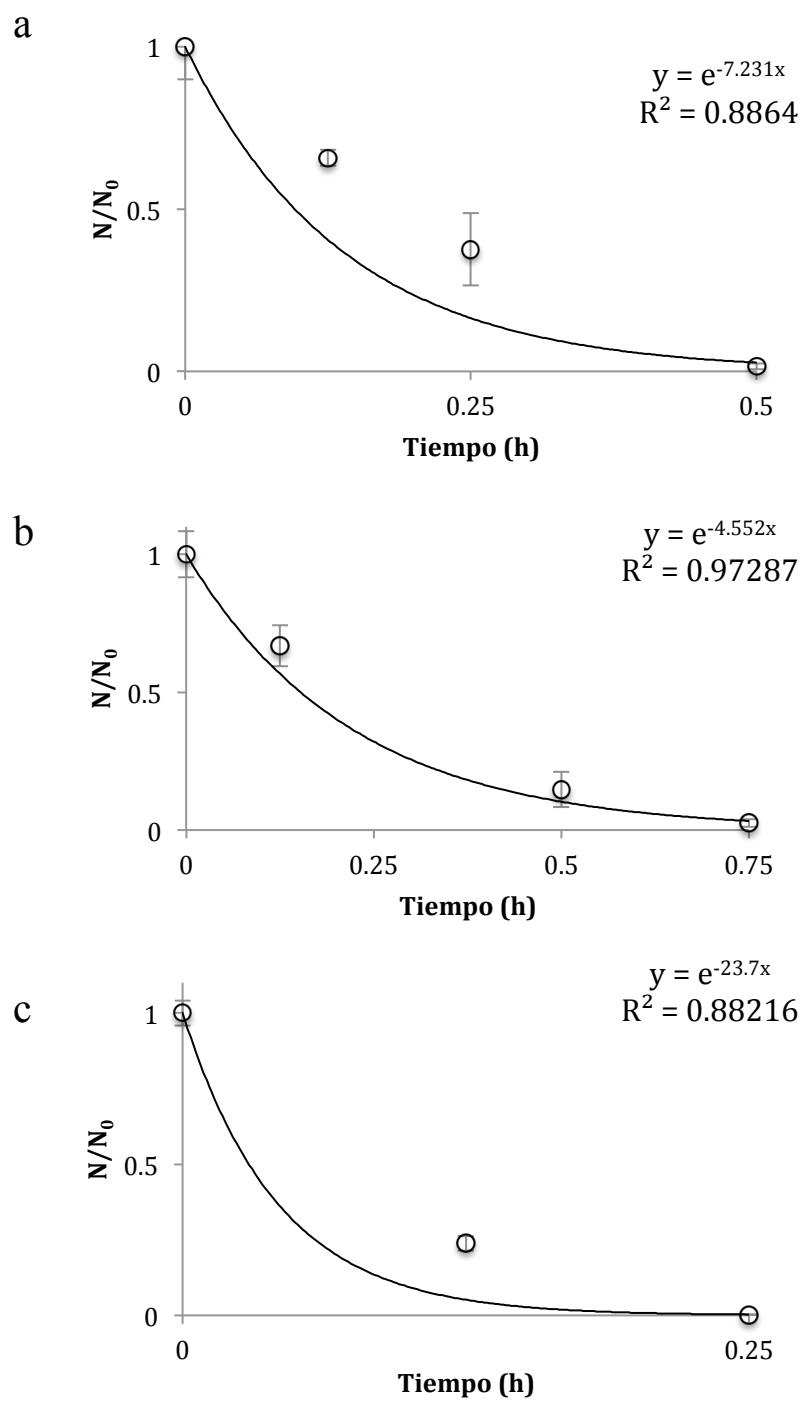


Figura 65. Cinética de desinfección de *E. coli* (a), *E. faecalis* (b) y *C. albicans* (c) en consorcio en agua de pozo (100 mL) con  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$  adicionado, frente a ZAgiónica (20 mg).

#### 6.10.2.2 Cinéticas de desorción

##### 6.10.2.2.1 Desorción de $\text{Na}^+$

Como ya se había mencionado anteriormente, el agua de pozo presenta una concentración inicial de Na de  $25 \pm 0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Sin embargo, se determinó la concentración de sodio nuevamente, después de haber estado en contacto con la ZAgiónica y el consorcio microbiano. En la Figura 66 se muestra la concentración inicial de  $25 \pm 0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y a las 6 horas de contacto con el material zeolítico (Tabla 22). Inicialmente la ZAgiónica remueve una concentración de  $0.5 \pm 0.01 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  aproximadamente, sin embargo a partir de dos horas de contacto, el sodio se desorbe del material zeolítico, debido a la competencia que se establece entre el  $\text{Na}^+$  y los otros cationes contenidos en el agua de pozo ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$ ) por los sitios de intercambio ubicados en la red cristalina de la zeolita (clinoptilolita).

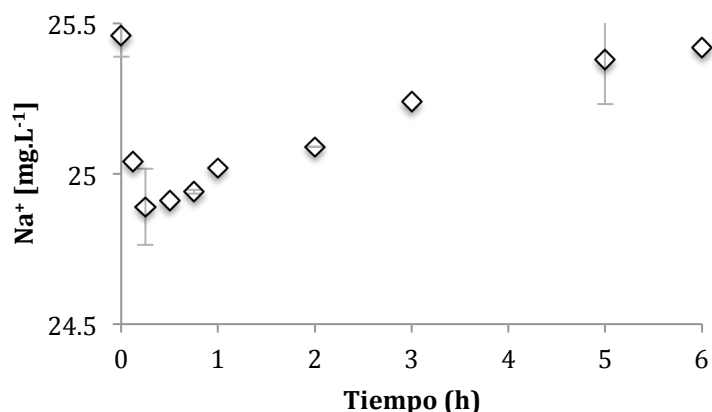


Figura 66. Desorción del  $\text{Na}^+$  por el material ZAgiónica (20 mg) con respecto al tiempo y el consorcio en agua de pozo (100 mL) con  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$ .

##### 6.10.2.2.2 Desorción de $\text{Ag}^+$

La difusión de la plata al medio acuoso, de los materiales zeolíticos (ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP) en contacto con el agua de pozo con  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$  adicionados, superó el límite máximo permitido por la norma oficial mexicana vigente, como se puede observar en la Tabla 22. La concentración de plata presente en el agua, aumentó con respecto al



tiempo, mientras que la sobrevivencia de los microorganismos disminuyó (Figura 65). En la Figura 67, se muestra Que entre las 3 y 5 horas de contacto del agua de pozo ( $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$ ) con ZAgnpT, se alcanza una meseta con un máximo de desorción de  $0.15 \pm 0.01 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , pero si se prolonga el tiempo de contacto a las 6 h, se llega a un nuevo máximo de  $0.37 \pm 0.01 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de  $\text{Ag}^+$ . Este comportamiento de la desorción de plata iónica puede deberse, a que solamente una parte de la plata contenida en la ZAgnpT se redujo y otra se encuentra como  $\text{Ag}^+$ . Además la presencia de los cationes en el medio, favorecen el intercambio iónico en función de la selectividad que presentan de los materiales zeolíticos.

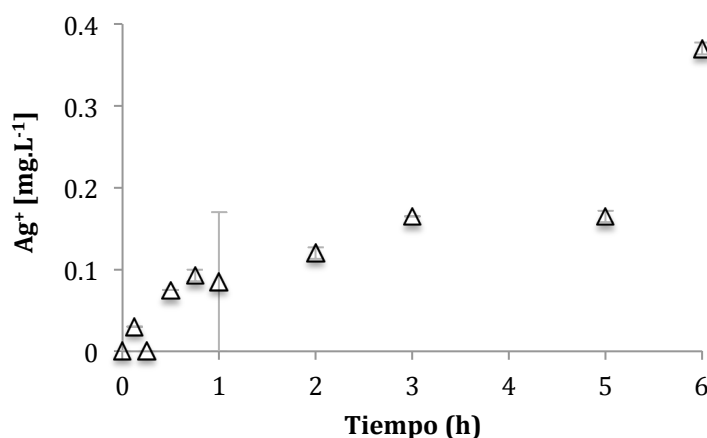


Figura 67. Desorción de la  $\text{Ag}^+$  por el material ZAgnpT (20 mg) en agua de pozo (100 mL) con  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$  adicionados, con respecto al tiempo y el consorcio como microorganismos de prueba.

En la Tabla 21, se muestra la concentración máxima de  $\text{Ag}^+$  desorbida y el ajuste de los datos experimentales a los modelos cinéticos de difusión. La desorción de la plata se ajustó al modelo cinético de *Korsmeyer-Peppas* para la ZAgiónica, encontrando un valor de  $k = 0.183 \text{ h}^{-n}$  y  $n = 0.388$ . Para la ZAgnpP, se presentó una  $k = 0.0193 \text{ h}$  y  $n = 0.553$ , cuyo valor de  $n$  sugiere que la liberación de la plata sigue un mecanismo de difusión de Fick (ver gráfico, Anexo 7, E). Asimismo para la ZAgnpT, los datos experimentales de la desorción de la plata se ajustaron al modelo de Higuchi obteniendo un valor de  $k = 0.018 \text{ h}^{-\frac{1}{2}}$ . La ZAgnpT muestra una velocidad de desorción menor (Figura 68), que la encontrada para ZAgnpP, considerando que ambos procesos muestran un valor de  $n \approx 0.5$ .

Tabla 22. Concentración de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Ag}^+$  ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) desorbidos y remoción de Fe y Mn ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) por los materiales zeolíticos ZNa, ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP en agua de pozo con Fe y Mn adicionados, el consorcio como microorganismos de prueba.

**Agua de pozo con  $\text{Mn}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$**

$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	Tiempo (h)									
	0	0.125	0.25	0.5	0.75	1	2	3	5	6
ZNa [ $\text{Na}^+$ ]	26.14±0.07	25.33±0.16	26.05±0.83	26.00±0.62	26.03±0.78	25.61±0.04	28.25±0.04	25.96±0.29	25.90±0.29	26.64±0.29
ZNa [ $\text{Mn}^{2+}$ ]	2.28±0.04	2.12±0.06	2.13±0.06	2.05±0.06	2.07±0.08	2.05±0.09	2.26±0.30	2.14±0.11	2.15±0.02	2.02±0.13
ZNa [ $\text{Fe}^{3+}$ ]	7.18±3.28	6.33±2.96	5.63±4.3	3.53±2.63	3.29±0.74	4.52±1.15	6.65±2.24	6.41±3.10	6.34±3.42	6.36±1.07
ZAgiónica [ $\text{Na}^+$ ]	25.51±0.07	24.95±0.13	24.89±0.13	24.91±0.001	25.04±0.15	24.95±0.10	25.1±0.01	25.27±0.01	25.35±0.04	25.37±0.06
ZAgiónica [ $\text{Ag}^+$ ]	0	0.05±0.02	0.06±0.01	0.10±0.04	0.13±0.01	0.16±0.001	0.16±0.001	0.21±0.04	0.20±0.03	0.19±0.01
ZAgiónica [Mn]	2.59±0.1	2.50±0.06	2.46±0.08	2.40±0.15	2.43±0.11	2.44±0.06	2.39±0.06	2.26±0.06	2.18±0.03	2.19±0.02
ZAgiónica [Fe]	5.36±0.32	5.19±0.24	4.70±0.37	3.61±2.00	4.53±0.64	4.83±0.27	4.35±0.09	4.17±0.23	3.56±0.30	3.26±0.18
ZAgnpT [ $\text{Na}^+$ ]	26.08±0.08	25.16±0.08	0.61±0.11	25.5±0.27	15.6±21.24	25.31±0.07	25.28±0.04	26.14±0.91	25.7±0.48	29.67±4.42
ZAgnpT [ $\text{Ag}^+$ ]	0	0.03±0.001	0	0.08±0.01	0.09±0.08	0.09±0.01	0.12±0.001	0.17±0.0	0.17±0.01	0.37±0.03
ZAgnpT [Mn]	1.85±0.03	2.33±0.02	0.06±0.01	2.28±0.12	2.63±1.82	2.25±0.01	2.19±0.04	2.18±0.06	2.16±0.01	2.57±0.38
ZAgnpT [Fe]	3.78±2.44	4.52±0.17	0.15±0.09	3.30±1.91	0.93±1.15	3.26±0.18	3.04±0.57	2.56±0.07	2.77±0.52	4.38±0.69
ZAgnpP [ $\text{Na}^+$ ]	25.65±0.17	25.06±0.09	25.07±0.35	25.13±0.03	25.06±0.06	25.35±0.16	25.36±0.01	25.42±0.1	25.53±0.11	25.38±0.08
ZAgnpP [ $\text{Ag}^+$ ]	0	0.03±0.03	0.06±0.02	0.1±0.02	0.1±0.4	0.13±0.01	0.18±0.01	0.23±0.01	0.34±0.07	0.22±0.01
ZAgnpP [Mn]	2.09±0.11	1.99±0.09	1.98±0.06	1.97±0.08	1.93±0.07	1.88±0.21	1.92±0.08	1.90±0.11	1.89±0.11	1.82±0.01
ZAgnpP [Fe]	4.44±0.35	4.11±0.32	4.20±0.36	4.11±0.40	3.49±1.0	2.76±1.61	3.89±0.54	3.68±0.01	3.59±0.01	3.67±0.08

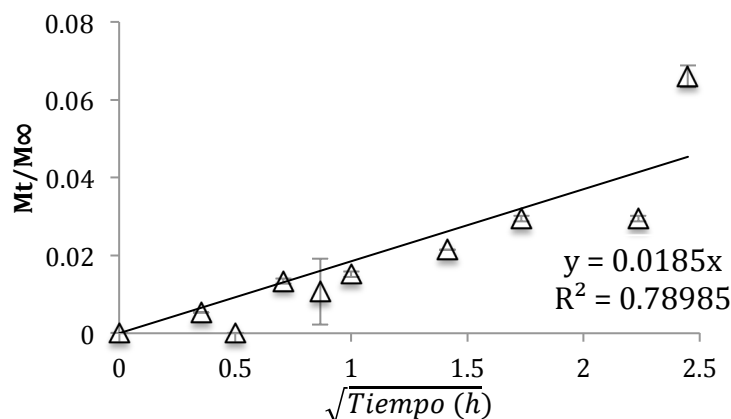


Figura 68. Modelo de Higuchi aplicado a la desorción de la plata por el material ZAgnpT (20 mg), considerando al consorcio en agua de pozo (100 mL) con  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$ .

#### 6.10.2.2.3 Remoción de $\text{Fe}^{3+}$ y $\text{Mn}^{2+}$ del agua de pozo con hierro y manganeso adicionados

El aumento de las concentraciones del Fe y Mn en el agua de pozo, no muestran interferencia alguna en el proceso de desinfección. Sin embargo, a diferencia de lo observado para el agua de pozo (Tabla 21), los materiales zeolíticos muestran una mayor capacidad de remoción tanto del  $\text{Fe}^{3+}$  como del  $\text{Mn}^{2+}$ , a la par de que se difunden los iones  $\text{Ag}^+$  y  $\text{Na}^+$  al medio acuoso. Los iones  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$  son removidos por la ZAgiónica y la ZAgnpP, mientras que no se aprecia la remoción de estos iones por la ZAgnpT (Tabla 22). En la figura 69 se muestra la remoción de  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$  por el material zeolítico de plata iónica (ZAgiónica) y aunque ambos metales son removidos, el intercambio iónico se lleva a cabo con el  $\text{Mn}^{2+}$ , ya que es probable que el hierro se encuentre precipitado sobre la superficie del material zeolítico, debido a que el valor de pH en el que se encuentra disponible en el agua, de acuerdo con los diagramas de distribución de especies, es ácido y el valor de pH del agua de pozo está cercano a la neutralidad (Anexo 8).

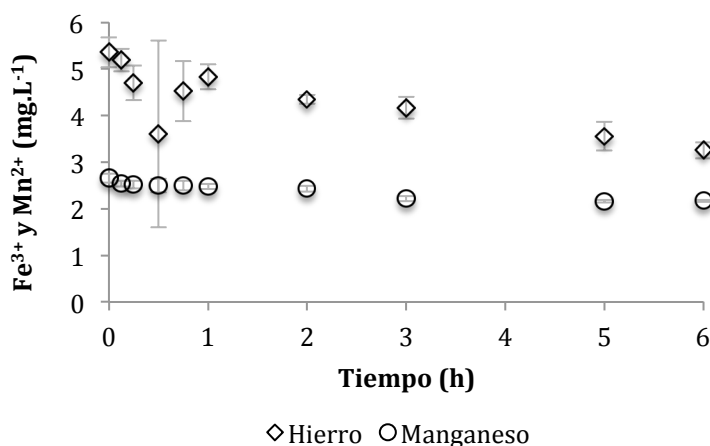


Figura 69. Remoción del hierro y manganeso por ZAgiónica (20 mg) con respecto al tiempo y el consorcio en agua de pozo (100 mL) con  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$  adicionados.

#### 6.10.2.2.4 Capacidad de sorción de $\text{Fe}^{3+}$ y $\text{Mn}^{2+}$ en agua de pozo con hierro y manganeso adicionados

En la figura 70a, se muestra la sorción del hierro y el manganeso por la ZAgiónica, y como se puede observar, ambas especies metálicas ( $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$ ) son sorbidos por el material zeolítico, de manera proporcional con respecto al tiempo. En contraparte, el material zeolítico ZAgnpT (figura 70b) muestra una sorción del  $\text{Fe}^{3+}$  dentro de la primera hora, pero a partir de este tiempo se desorbe. Esto probablemente se deba a la especiación química del Fe involucrada en el proceso. En el caso de la sorción del  $\text{Mn}^{2+}$  se aprecia un comportamiento similar al del  $\text{Fe}^{3+}$  en la primera hora, sin embargo llega a desorberse casi en su totalidad después de este tiempo. Lo que muestra claramente, que los sitios de intercambio iónico de la zeolita (clinoptilolita) no están tan disponibles en el caso de la ZAgnpT con respecto a los de la ZAgiónica.

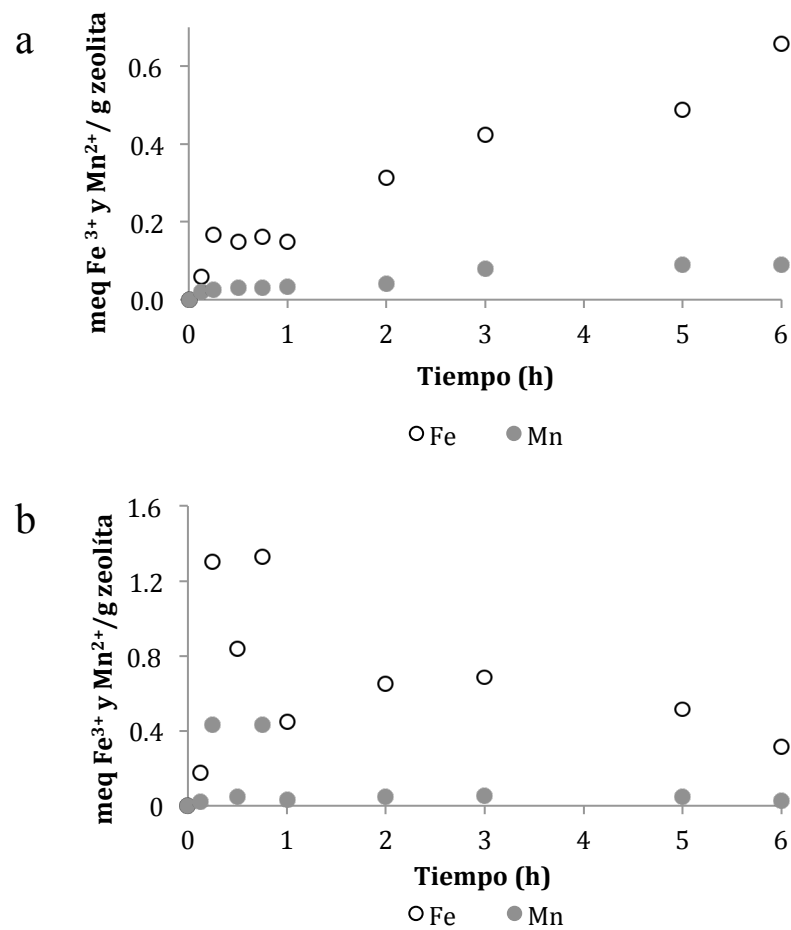


Figura 70. Sorción de hierro y manganeso por ZAgiónica (a) y ZAgnpT (b) con respecto al tiempo y el consorcio en agua de pozo (100 mL) con  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$  adicionados

## CONCLUSIONES

### CARACTERIZACIÓN DEL MATERIAL ZEOLÍTICO

El material zeolítico natural, es una clinoptilolita-mordenita y el intercambio iónico  $\text{Na}^+/\text{Ag}^+$  fue eficiente.

La reducción de la plata contenida en la zeolita natural modificada, a partir del extracto de toronja o de la irradiación con plasma, promovieron la obtención de nanopartículas de forma semi-esférica de tamaño de 1 a 5 nm para el primer caso y de 2 a 25 nm para el segundo caso, distribuidas de manera homogénea en la red cristalina de la zeolítica.

La irradiación del material zeolítico natural modificado con plata contiene una gran variedad de compuestos de plata a diferencia de la que se trató con el zumo de toronja.

La reducción de la plata por el zumo de toronja y por la irradiación con plasma de la zeolita natural modificada con plata, generan nanopartículas de  $\text{Ag}^0$  y clusters de plata ( $\text{Ag}_2\text{O}$  y  $\text{AgO}$ ). El contenido de plata que se encontró tanto en la ZAgnpT como en la ZAgnpP fue del 3%.

### DESINFECCIÓN

El material zeolítico sódico fue empleado como control experimental debido a que no tiene efecto negativo en el crecimiento de los microorganismos.

Los sistemas de desinfección con ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP (20 mg), en agua desionizada (100 mL) y agua de pozo (100 mL) ambas con y sin  $\text{Mn}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$  se ajustaron al modelo matemático de Chick y Chick modificado con tiempo de latencia, con curvas de inhibición de primer orden.

El proceso de inhibición bacteriana para los sistemas microbianos individuales es más eficiente en presencia de materiales que presentan nanopartículas para sistemas individuales que aquellos iónicos.

La cinética de desinfección para *E. coli* en el agua desionizada de manera individual, muestra el orden siguiente:

$$k_{ZAgnpP} > k_{ZAgnpT} > k_{ZAgiónica}.$$

Mientras que para *E. faecalis* y *C. albicans* el tiempo total de inactivación por los materiales zeolíticos presentan el orden siguiente:

$$E. faecalis \ t_fZAgiónica > t_fZAgnpT = t_fZAgnpP$$

$$C. albicans \ t_fZAgiónica > t_fZAgnpP = t_fZAgnpT$$

*E. faecalis* presenta mayor tolerancia al estrés oxidativo que se genera por la reacción de la plata de ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP en el agua, tanto de manera individual como en consorcio, en comparación con *E. coli* y *C. albicans*.

En el consorcio, la constante cinética de desinfección para *E. coli* en agua desionizada presenta el orden siguiente:  $k_{ZAgnpT} > k_{ZAgiónica} > k_{ZAgnpP}$ .

Para *E. faecalis* y *C. albicans*, el tiempo de inactivación por los materiales zeolíticos presentan el orden siguiente:

$$E. faecalis \ t_fZAgiónica = t_fZAgnpP > t_fZAgnpT$$

$$C. albicans \ t_fZAgiónica > t_fZAgnpP = t_fZAgnpT$$

En agua desionizada con  $Fe^{3+}$  y  $Mn^{2+}$ , las cinéticas de desinfección se ven favorecidas con los materiales de plata reducidos para ambas bacterias.

$$E. coli \ k_{ZAgnpT} > k_{ZAgnpP} > k_{ZAgiónica}$$

$$E. faecalis \quad k_{ZAgnpT} > k_{ZAgiónica} > k_{ZAgnpP}$$

El tiempo necesario para la inactivación total para *C. albicans* en consorcio y en agua desionizada con  $Fe^{3+}$  y  $Mn^{2+}$ , presenta el orden siguiente:

$$C. albicans \quad t_{fZAgnpT} = t_{fZAgnpP} > t_{fZAgiónica}$$

La presencia de los metales  $Fe^{3+}$  y  $Mn^{2+}$  promueve la sobrevivencia de los microorganismos en el agua desionizada y agua de pozo.

Durante el proceso de desinfección, la velocidad de decaimiento celular en el agua de pozo fue considerablemente mayor en comparación con el agua destilada.

En el agua de pozo, un significativo nivel de inactivación fue observado con el material zeolítico ZNa.

Los materiales zeolíticos frente a *E. coli* y *C. albicans* en el agua de pozo presentaron la siguiente orden de eficiencia de desinfección:

$$k_{ZAgnpP} > k_{ZAgiónica} > k_{ZAgnpT}$$

El tiempo para la inactivación total por los materiales zeolíticos para *E. faecalis* en agua de pozo presenta el orden siguiente:

$$t_{fZAgnpP} > t_{fZAgnpT} = t_{fZAgiónica}$$

El tiempo total de desinfección para *E. coli* y *E. faecalis* en agua de pozo con  $Fe^{3+}$  y  $Mn^{2+}$  añadido presenta el orden siguiente:

$$E. coli \quad t_{fZAgiónica} > t_{fZAgnpT} = t_{fZAgnpP}$$

$$E. faecalis \quad t_{fZAgnpP} > t_{fZAgiónica} > t_{fZAgnpT}$$



La eficiencia de desinfección de los materiales zeolíticos frente a *C. albicans* en agua de pozo con  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$  añadido sigue el orden:

$$\mathbf{kZAgiónica > kZAgnpP > kZAgnpT}$$

El proceso de inhibición microbiana en agua de pozo es más eficiente que en agua desionizada. Los componentes asociados al agua de pozo promueven el intercambio iónico de la plata al medio acuoso, mostrando tiempos de desinfección menores y velocidades de decaimiento celular mayores.

#### DESORCIÓN DE PLATA Y SODIO

En agua desionizada y agua desionizada en presencia de  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$ , los materiales zeolíticos ZNa, ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP aportan una concentración de Na hasta de  $2 \pm 0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  al medio acuoso.

En agua de pozo, la desorción de sodio por ZNa, ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP al medio acuoso es mayor ( $1 \pm 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), que en el agua de pozo en presencia de  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$  ( $0.5 \pm 0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ).

La presencia de Ag iónica en los materiales zeolíticos (ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP), se debe a que no toda la plata iónica se reduce de  $\text{Ag}^{+1}$  a  $\text{Ag}^0$  con las técnicas empleadas, siendo esto más evidente en ZAgnpT.

En ambas soluciones acuosas la desorción de la plata iónica se llevó a cabo de manera eficiente, sin embargo cuando los metales estuvieron presentes en las soluciones, la desorción fue mayor.

La concentración de Ag desorbida por los materiales zeolíticos de plata iónica y plata reducida superan el límite máximo de plata de  $0.05 \text{ mgL}^{-1}$  establecido por la NOM-041-SSA1-1993.

Se obtuvieron las constantes cinéticas de difusión de Higuchi y *Korsmeyer - Peppas* del proceso de desorción de la plata de los materiales zeolíticos modificados, durante el proceso de desinfección.

### **REMOCIÓN Y SORCIÓN DE $\text{Fe}^{3+}$ Y $\text{Mn}^{2+}$**

En agua desionizada en presencia de  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$ , se llevó a cabo la remoción de estos metales por los materiales zeolíticos siendo selectivos para el  $\text{Mn}^{2+}$ .

En agua de pozo, la remoción de estos metales ( $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$ ) por los materiales zeolíticos, se ve comprometida por los cationes presentes en el agua y la competencia que se genera por el equilibrio de cargas de la zeolita.

En agua de pozo y agua de pozo con hierro y manganeso; la sorción del  $\text{Fe}^{3+}$  y el  $\text{Mn}^{2+}$  se vio comprometida por la competencia por los sitios de intercambio de la zeolita con los cationes presentes en el agua, evitando que el proceso de sorción se llevará a cabo de manera eficiente.

### **PROPUESTA DE MECANISMOS DE DESINFECCIÓN**

#### **BACTERIAS (GRAM POSITIVAS- GRAM NEGATIVAS)**

Los estados de oxidación de la plata en los materiales zeolíticos tiene afinidad por polisacáridos y aminoácidos por lo que fácilmente reaccionan con los grupos tiol de las proteínas celulares inactivándolas.

*E. faecalis* mostró mayor resistencia a la presencia de especies reactivas de oxígeno (ROS) generadas por la plata en el medio acuoso que *E. coli*. Debido a las diferencias enzimáticas de respuesta de las bacterias al estrés oxidativo.

La plata iónica y en nanopartículas, afecta principalmente las cadenas respiratorias celulares y los enlaces de hidrógeno del ADN desnaturizándolo.

## **LEVADURAS**

La plata iónica induce a la apoptosis celular por estrés oxidativo.

Las nanopartículas forman poros a nivel de membrana, liberando componentes esenciales y ocasionando muerte celular.

La plata inhibe la formación de hifas lo que evita la formación de biofilms y colonización de la especie.

Los iones plata se unen a la célula afectando la replicación del ADN.

A altas concentraciones de especies reactivas de oxígeno ( $\cdot\text{OH}$ ,  $\text{O}_2^-$  y  $\text{H}_2\text{O}_2$ ), activan los mecanismos de apoptosis celular.

## **RECOMENDACIONES**

Se recomienda evaluar el efecto microbicida de los materiales zeolíticos sobre el consorcio en un sistema en lote, disminuyendo la concentración de Ag en éstos, para lograr una reducción en la desorción de plata de acuerdo al límite máximo permitido por la normatividad mexicana vigente.

Se sugiere aplicar los métodos de desinfección investigados, en un ambiente controlado, para evitar la dispersión de nanopartículas al agua y al ambiente, mientras se evalúa la inocuidad de las nanopartículas de plata, en la salud humana.

Se sugiere realizar una investigación enfocada en la recuperación de la plata residual para lograr un mejor desarrollo tecnológico.

## REFERENCIAS

- Ainurofiq A., S. Choiri. 2014.* Application of montmorillonite, zeolite and hydrotalcite nanocomposite clays-drug as drug carrier of sustained release tablet dosage form. Indonesian J. Pharm. 25 (3), 125 – 131.
- Ahmed S., Ahmad M., Swami B. L., S. Ikram. 2015.* A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise, Journal of Advanced Research. 7(1), 17-28.
- Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., P. Walter. 2008.* Biología Molecular de La Célula. 5ta Edición. Ediciones OMEGA. España. pp. 606-617.
- Allaker R., K. Memarzadeh. 2014.* Nanoparticles and the control of oral infections. International Journal of Antimicrobial Agents. 43, 95– 104.
- AL-Thabaiti S. A., Khan Z., Hussain S. 2015.* Biogenic silver nanosols: Flavonol based green synthesis, and effects of stabilizers on their morphology. Journal of Molecular Liquids. 212, 316–324.
- APHA–AWWA–WPCF. 2005.* Standard methods for examination of water and wastewater. 17th edition. Washington D. C., U.S.A.: American Public Health Association and Water Pollution Control Federation.
- Aragón J., González R., G. Fuentes. 2009.* Cinética de liberación de cefalexina desde un biomaterial compuesto por HAP-200/POVIAC/CaCO<sub>3</sub>. Revista Iberoamericana de Polimeros. 10 (2), 119-130.
- Ates A. 2014.* Role of modification of natural zeolite in removal of manganese from aqueous solutions. Powder Technology. 264, 86–95
- Bachtiar E. W., Dewiyan S., Suroño Akbar S. M., B. M. Bachtiar. 2016.* Inhibition of *Candida albicans* biofilm development by unencapsulated *Enterococcus faecalis* cps2. Journal of Dental Sciences. 11, 323-330.
- Bandara H. M. H. N., Yau J. Y. Y., Watt R. M., Jin L. J., L. P. Samaranayake. 2009.* *Escherichia coli* and its lipopolysaccharide modulate in vitro *Candida* biofilm formation. Journal of Medical Microbiology. 58, 1623–1631.
- Bárdos L., H. Baránková. 2010.* Cold atmospheric plasma: Sources, processes, and applications. Thin Solid Films. 518, 6705–6713.

- Barr T. L. 1991.* Recent advances in x-ray photoelectron spectroscopy studies of oxides. *J. Vac. Sci. Technol A*, 9 (3), 1793-1805.
- Barr T. L. 1990.* The nature of the relative bonding chemistry in zeolites: An XPS study. *Journal Phys. Chem. ZEOLITES*. 10, 760-765.
- Boutinguiza M., Comesaña R., Lusquiños F., Riveiro A., del Val J. y J. Pou. 2015.* Production of silver nanoparticles by laser ablation in open air. *Applied Surface Science*. 336, 108–111.
- Breck W.* Zeolite molecular sieves. 1974. Wiley Interscience, New York.
- Cabaj A., Kosakowska A. 2009.* Iron-dependent growth of and siderophore production by two heterotrophic bacteria isolated from brackish water of the southern Baltic Sea. *Microbiological Research*. 164, 570—577.
- Cárdenas-Perea M. E., Cruz y López O. R., Gándara-Ramírez J. L., Pérez-Hernández M. A. 2014.* Factores de virulencia bacteriana: la “inteligencia” de las bacterias. *Elementos* 94. 35-43.
- Chenhall B. E., Ellis J., Crisp P.T., Payling R. Tandon R.K., R.S. Baker. 1985.* Application of X-ray photoelectron spectroscopy to the analysis of stainless-steel welding aerosols. *Applications of Surface Science*. 20, 527-537.
- Chiang S. M., H. E. Schellhorn. 2012.* Regulators of oxidative stress response genes in *Escherichia coli* and their functional conservation in bacteria. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 525, 161-169.
- Chiericatti C., Basílico J.J., Zapata Basílico M., J.M. Zamaro. 2014.* Antifungal activity of silver ions exchanged in mordenite. *Microporous and Mesoporous Materials*. 188, 118–125.
- Chick H. 1908.* An investigation of the laws of disinfection. *Journal of Hygiene*. 8, 92 – 158.
- Chmielewska D., B. Sartowska. 2012.* Radiation synthesis of silver nanostructures in cotton matrix. *Radiation Physics and Chemistry*. 81, 1244–1248.
- Cohen, G. N. 2011.* Microbial Biochemistry. Segunda Edición. 11 pp.
- Comisión Nacional del Agua. CONAGUA. 2015.* Atlas del Agua en México.
- Comisión Nacional del Agua. CONAGUA. 2007.* Manual de Agua Potable, Alcantarillado y Saneamiento. 318 pp.
- Cowan M. K. 2012.* Microbiology: A systems approach. Tercera Edición. 169- 170 pp.

- Das B. et al.* 2015. Green synthesized silver nanoparticles destroy multidrug resistant bacteria via reactive oxygen species mediated membrane damage. *Arabian Journal of Chemistry*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.08.008>
- de la Rosa I.* 2007. Comportamiento de rocas zeolíticas acondicionadas con plata en el proceso de desinfección de agua residual de origen municipal. Tesis Doctorado Instituto Tecnológico de Toluca, Junio.
- de Vargas L., A. Barrenechea Martel.* 2004. Tratamiento de agua para consumo humano, Plantas de filtración rápida. Desinfección, Lima, CEPIS/OPS.
- Eckhardt S., Brunetto P. S., Gagnon J., Priebe M., Giese B. K. M. Fromm.* 2013. Nanobio Silver: It's Interactions with Peptides and Bacteria, and Its Uses in Medicine. *Chemical Reviews*. 113, 4708–4754.
- Ene I. V., Brunke S., Brown A.J.P., B. Hube.* 2014. Metabolism in Fungal Pathogenesis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 1-21.
- Farr S. B., T. Kogoma.* 1991. Oxidative Stress Responses in *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. *Microbiological Reviews*. 55 (4), 561-585.
- Ferraria A. M., Carapeto A. P., A. M. Botelho do Rego.* 2012. X-ray photoelectron spectroscopy: Silver salts revisited. *Vacuum* 86, 1988-1991.
- Flores-López N. S., Castro-Rosas J., Ramírez-Bom R., Mendoza-Córdova A., Larios-Rodríguez, E., M. Flores-Acosta.* 2012. Synthesis and properties of crystalline silver nanoparticles supported in natural zeolite chabazite. *Journal of Molecular Structure*. 1028, 110 – 115.
- Fraga C. G.* 2005. Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. *Molecular Aspects of Medicine*. 26, 235–244.
- Hancock L. E., Murray B. E., Sillanpää J.* Enterococcal Cell Wall Components and Structures. 2014 Feb 13. In: Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, et al., editors. *Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection* [Internet]. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary; 2014. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190431/>
- Harwood V. J., Brownell M., Perusek W., J. E. Whitlock.* 2001. Vancomycin - Resistant *Enterococcus* spp. Isolated from Wastewater and Chicken Feces in the United States. *Appl. Environ. Microbiol.* 67(10) 4930-4933.

- Hee-Jin P., Jee Yeon K., Jaeun K., Joon-Hee L., Ji-Sook H., Man Bock G., Y. Jeyong. 2009.* Silver-ion-mediated reactive oxygen species generation affecting bactericidal activity. *Water Research* 43, 1027–1032
- Herrera T., M. Ulloa. 1998.* El Reino de los Hongos. Micología Básica y Aplicada. Fondo de Cultura Económica. 2a Ed. México. pp. 181-182, 394, 414-417.
- Higuchi T. 1963.* Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drug dispersed in solid matrices. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 52 (12), 1145-1149.
- Hossain F., Perales-Perez O. J., Hwang S., F. Román. 2014.* Antimicrobial nanomaterials as water disinfectant: Applications, limitations and future perspectives. *Science of the Total Environment*. 466–467, 1047–1059.
- Hassouna M. E. M., Shaban M., Nassif F.M. 2014.* Removal of iron and manganese ions from groundwater using kaolin sub micropowder and its modified forms. *International Journal of Bioassays*. 3 (07), 3137-3145.
- How J. A., Lim J. Z. R., Goh D. J. W., Chuan Ng W., Oon J. S. H., Lee K. C., Lee C. H., Ling M. H. T. 2012.* Adaptation of *Escherichia coli* ATCC 8739 to 11% NaCl. *Dataset Paper in Biology*. 2013, 1-7.
- Inoue Y., Hoshino M., Takahashi, H., Noguchi T., Murata T., Kanzaki Y., Hamashima H., M. Sasatsu. 2002.* Bactericidal activity of Ag–zeolite mediated by reactive oxygen species under aerated conditions. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 92, 37–42.
- Jakubovics N. S., Valentine R. A. 2009.* A new direction for manganese homeostasis in bacteria: Identification of a novel efflux system in *Streptococcus pneumoniae*. *Molecular Microbiology*. 72 (1), 1–4
- Jiraroj D., Tungasmita S., D. N. Tungasmita. 2014.* Silver ions and silver nanoparticles in zeolite A composites for antibacterial activity. *Powder Technology*. 264, 418–422.
- Khan M. K., Zill- E- Huma, O. Dangles. 2014.* A comprehensive review on flavanones, the major citrus polyphenols. *Journal of Food Composition and Analysis*. 33, 85–104.
- Khodashenas B., H. R. Ghorbani. 2015.* Synthesis of silver nanoparticles with different shapes. *Arabian Journal of Chemistry*.

- Kim K.- J., Sung W.- S., Suh B. K., Moon S.- K., Choi J.- S., Kim J.-G., D. G. Lee. 2009. Antifungal activity and mode of action of silver nano-particles on *Candida albicans*. *Biometals*. 22, 235–242.
- Kim S., Kuk, E., Nam Yu, K., Kim J-H., Park S. J., Jang Lee H., Hyun Kim S., Kyung Y., Ho Park Y., Hwang C-Y., Kim Y-K., Lee Y-S., Jeong D-H., M-H. Cho. 2007. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. 3 (1), 95–101.
- Kinclova-Zimmermannova O., H. Sychrova. 2007. Plasma-membrane Cnh1 Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter regulates potassium homeostasis in *Candida albicans*. *Microbiology*. 153, 2603–2612.
- Kitagawa H., Izutani N., Kitagawa R., Maezono H., Yamaguchi M., S. Imazato. 2016. Evolution of resistance to cationic biocides in *Streptococcus mutans* and *Enterococcus faecalis*. *Journal of Dentistry*. 47, 18–22.
- Korsmeyer R. W., Peppas N. A. 1983. Swelling- Controlled delivery systems for pharmaceutical applications: macromolecular and modeling considerations. *Controlled release delivery systems*. Mansdorf SZ, Roseman TJ, editors. P. 77-90.
- Krewulak K. D., Vogel H. J. 2008. Review: Structural biology of bacterial iron uptake. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1778, 1781–1804.
- Kumar B., Smita K., Cumbal L., A. Debut. 2014. Green Approach for Fabrication and Applications of Zinc Oxide Nanoparticles. *Bioinorganic Chemistry and Applications*. 7 pp.
- Lara H. H., Romero-Urbina D. G., Pierce C., Lopez-Ribot J. L., Arellano-Jiménez M. J., M. José- Yacaman. 2015. Effect of silver nanoparticles on *Candida albicans* biofilms: an ultrastructural study. *Journal of Nanobiotechnology*. 13, 91.
- Liau S.Y., Read D.C., Pugh W.J., Furr J.R., Russell A.D. 1997. Interaction of silver nitrate with readily identifiable groups: Relationship to the antibacterial action of silver ions. *Letters in Applied Microbiology*. 25 (4), 279-283.
- Madigan M., Martinko J., J. Parker. 2004. Brock, *Biología de los microorganismos*. Prentice Hall. España. 1011 pp.
- Matsumura Y., Yoshikata K., Kunisaki S., T. Tsuchido. 2003. Mode of bactericidal action of silver zeolite and its comparison with that of Silver Nitrate. *Appl. Environ. Microbiol.* 69 (7), 4278



- Monteiro D. R., Takamiya A. S., Perina Feresin L., Gorup L. F., Rodrigues de Camargo E., Botazzo Delbem A. B., Henriques M., Barros Barbosa D. 2015. Susceptibility of *Candida albicans* and *Candida glabrata* biofilms to silver nanoparticles in intermediate and mature development phases. *Journal of Prosthodontic Research* 59, 42–48.
- Motsi T, Rowson N.A., M.J.H. Simmons. 2009. Adsorption of heavy metals from acid mine drainage by natural zeolite. *Int. J. Miner. Process.* 92; 42–48
- Moulder J. F., Stickle W. F., Sobol P. E. Bomben K.D. 1995. Handbook of X-ray Photoelectron Spectroscopy. Physical Electronics, Inc. United States of America. 261 pp.
- Murray P. R., Baron E. J., Tenover F. C., R. H. Tenover. 1999. Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology. 7ma Ed. USA. 297-303, 452-453, 458-465, 1192-1195 pp.
- Nagy, A., Harrison, A., Sabbani, S., Munson R., Dutta P., W. Waldman. 2011. Silver nanoparticles embedded in zeolite membranes: release of silver ions and mechanism of antibacterial action. *International Journal of Nanomedicine*. 6, 1833–1852.
- Nasrollahi A., Pourshamsian Kh., P. Mansourkiaee. 2011. Antifungal activity of silver nanoparticles on some of fungi. *Int. J. Nano. Dim* 1(3), 233-239.
- Netea M. G., Brown G. D., Kullberg B. J., N. A. R. Gow. 2008. An integrated model of the recognition of *Candida albicans* by the innate immune system. *Nature reviews. Microbiology*. 6, 67-78.
- Nevenka Rajic, N., Stojakovic D., Jevtic S., Zabukovec Logar, N., Kovacc J., V. Kaucic. 2009. Removal of aqueous manganese using the natural zeolitic tuff from the Vranjska Banja deposit in Serbia. *Journal of Hazardous Materials*. 172, 1450–1457.
- Norma Oficial Mexicana. NOM-014-SSAI-1993. Procedimientos sanitarios para el muestreo de agua para uso y consumo humano en sistemas de abastecimiento de agua públicos y privados. Publicada en el Diario Oficial de la Federación, 12 de agosto de 1994.
- Norma Oficial Mexicana NOM-041-SSAI-1993. Bienes y servicios. Agua purificada envasada. Especificaciones sanitarias. Publicada en el Diario Oficial de la Federación, 29 de noviembre de 1994.

- Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994*, Salud ambiental, agua para uso y consumo humano- Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. Publicada en el Diario Oficial de la Federación, 31 de mayo de 1994.
- Nylund A., I. Olefford. 1994.* Surface Analysis of Oxidized Aluminium - 1. Hydration of  $\text{Al}_2\text{O}_3$  and Decomposition of  $\text{Al}(\text{OH})_3$  in a Vacuum as Studied by ESCA. Surface and Interface Analysis. 21, 283-289.
- O' Donnell L. E., Millhouse E., Sherry L., Kean R., Malcolm J., Nile C. J., G. Ramage. 2015.* Polymicrobial *Candida* biofilms: friends and foe in the oral cavity. FEMS Yeast Research. 15, 1-14.
- Ovalle Serrano S. A. 2012.* Síntesis verde de nanopartículas de plata y óxido de cobre sobre fibras de fique. Tesis. Universidad Industrial de Santander. Colombia.
- Paradee N., A. Sirivat. 2016.* Encapsulation of folic acid in zeolite Y for controlled release via electric field. Mol Pharm. 4;13(1),155-62.
- Patel V., Berthold D., Puranik P., M. Gantar. 2015.* Screening of cyanobacteria and microalgae for their ability to synthesize silver nanoparticles with antibacterial activity. Biotechnology Reports. 5, 112–119.
- Perrone G. G., Tan S.-X., I. W. Dawes. 2008.* Reactive oxygen species and yeast apoptosis. Biochimica et Biophysica Acta.178, 1354–1368.
- Philpott C. C. 2006.* Review: Iron uptake in fungi: A system for every source. Biochimica et Biophysica Acta. 1763, 636–645.
- Plan de Desarrollo Municipal de Toluca. 2016- 2018.* Honorable Ayuntamiento de Toluca. Publicada en la Gaceta Municipal Especial, 30 de marzo de 2016.
- Porcheron G., Garénaux A., Proulx J., Sabri M., C. M. Dozois. 2013.* Iron, copper, zinc, and manganese transport and regulation in pathogenic Enterobacteria: correlations between strains, site of infection and the relative importance of the different metal transport systems for virulence. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 3 (9), 1-24.
- Prashanth L., Kumar Kattapagari K., Teja Chitturi R., Reddy Baddam V. R. y Krishna Prasad L. 2015.* A review on role of essential trace elements in health and disease. Journal of Dr. NTR University of Health Sciences. 4 (2), 75-85.

- Pullés R.* 2014. Microorganismos indicadores de la calidad del agua potable en cuba. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 45 (1), 25-36.
- Rai, M., Yadav, A., A. Gade.* 2009. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology Advances*. 27(1), 76–83.
- Rai M.K., Deshmukh S.D., Ingle A.P., A.K. Gade.* 2012. Silver nanoparticles: the powerful nanoweapon against multidrug-resistant bacteria. *Journal of Applied Microbiology*. 112, 841–852.
- Ramsey M, Hartke A, Huycke M.* The Physiology and Metabolism of Enterococci. 2014 Feb 15. In: Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, et al., editors. *Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection* [Internet]. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary; 2014-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190432/>.
- Rotole J. A., P. M. A. Sherwood.* 1999. Valence band x-ray photoelectron spectroscopic studies to distinguish between oxidized aluminum species. *J. Vac. Sci. Technol. A*. 17 (4), 1091-1096.
- Rowan R., Mccann M., K. Kavanagh.* 2010. Analysis of the response of *Candida albicans* cells to Silver (I). *Medical Mycology*. 48, 498–505
- Rutala W.A., Weber D.J., HICPAC.* 2008. Guideline for disinfection and sterilization in health care facilities. Atlanta, GA, USA: Center for Disease Control and Prevention. 158 pp.
- Sánchez- Gómez I.* 2008. Generador de Plasma por Radiofrecuencia, Aplicado al Tratamiento de Superficies. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. Escuela Superior de Ingeniería Mecánica y Eléctrica. Unidad Profesional Adolfo López Mateos.
- Sankar R., Manikandan P., Malarvizhi V., Fathima T., Shivashangari K. S., Ravikumar V.* 2014. Green synthesis of colloidal copper oxide nanoparticles using *Carica papaya* and its application in photocatalytic dye degradation. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 121, 746–750.
- Sastry M., Ahmad A., Khan M. I., R. Kumar.* 2003. Biosynthesis of metal nanoparticles using fungi and actinomycete. *Current Science*, 85 (25), 162-169.
- Sathishkumar, M., Sneha, K., Won, S.W., Cho, C-W., Kim, S., Yun, Y.S.* 2009. *Cinnamom zeylanicum* bark extract and powder mediated green synthesis of nanocrystalline silver

- particles and its bactericidal activity. *Colloids and Surfaces: Biointerfaces*. 73, 332–338.
- Schaechter, M. 2009. Escherichia coli. En Desk Encyclopedia of Microbiology (420-427) USA: Elsevier.*
- Sharma V.K., Yngard R. A., Y. Lin. 2009. Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities. Advances in Colloid and Interface Science. 145, 83–96*
- Shi, H., Liu F., L. Xue. 2013. Fabrication and characterization of antibacterial PVDF hollow fibre membrane by doping Ag-loaded zeolites. Journal of Membrane Science. 437, 205–215.*
- Su H.- L., Chou C.- C., Hung D.- J., Lin S., Pao I.- C., Lin J.- H., Huang F.- L., Dong R.- X., J. – J. Lin. 2009. The disruption of bacterial membrane integrity through ROS generation induced by nanohybrids of silver and clay. Biomaterials. 30, 5979–5987.*
- Tchobanoglous G., Burton F. L., H.D. Stensel 2003. Wastewater Engineering Treatment and Reuse. Fourth Edition. Metcalf & Eddy Inc. pp. 1878.*
- Terenteva E.A., Apyari V.V., Dmitrienko S.G., Yu. A. Zolotov. 2015. Formation of plasmonic silver nanoparticles by flavonoid reduction: A comparative study and application for determination of these substances. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 151, 89–95.*
- Tortora G. J., Funke B. R., Case C. L. 2010. Microbiology an Introduction. Decima Edición. Benjamín Cummings. Pagina 82.*
- Traverso, H. 1996. Agua y salud en América Latina y el Caribe: Enfermedades infecciosas transmitidas por el agua. ILSI Press. USA. pp. 51- 58.*
- Vidal, J. E., Canizález-Román, A., Gutiérrez-Jiménez, J., F. Navarro-García. 2007. Patogénesis molecular, epidemiología y diagnóstico de Escherichia coli enteropatógena. Salud pública de México. 49 (5), 376-386.*
- Vidhu V. K., D. Philip. 2014. Catalytic degradation of organic dyes using biosynthesized silver nanoparticles. Micron. 56, 54–62*
- Volesky B. 2007. Biosorption and me. Water Research. 41, 4017- 4029.*
- Wagner C.D., Passoja D.E., Six H.A., Hillery H.F., Taylor J.A., Kinisky T.G., W.T. Jansen. 1982. Auger and photoelectron line energy relationships in aluminium-oxygen and silicon oxygen compounds. J. Vac. Sci. Technol. 21 (4), 933-944.*

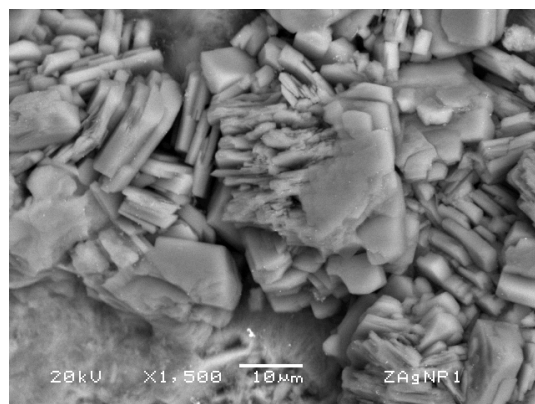
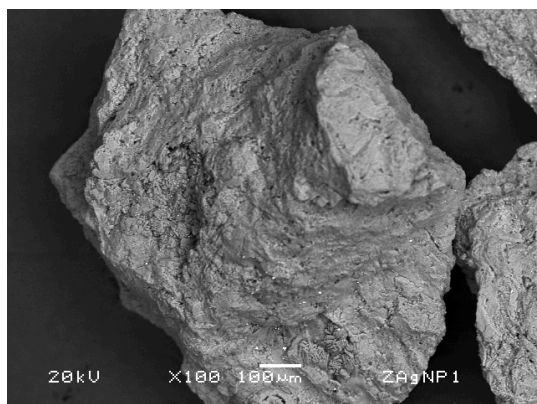
- Walker, G. M. 2009. Yeast. En Desk Encyclopedia of Microbiology. 1174-1187. USA: Elsevier.*
- Watson, H. E. 1908. A note on the variation of the rate of disinfection with change in the concentration of the disinfectant. Journal of Hygiene. 8, 536 – 542.*
- Yang M., Jensen L. T., Gardner A. J., Culotta V. C. 2005. Manganese toxicity and *Saccharomyces cerevisiae* Mam3p, a member of the ACDP (ancient conserved domain protein) family. Biochemical Journal. 386, 479–487.*
- Yousefzadi M., Rahimi Z., V. Ghafari. 2014. The green synthesis, characterization and antimicrobial activities of silver nanoparticles synthesized from green alga *Enteromorpha flexuosa* (wulfen) J.Agardh. Materials Letters. 137, 1–4.*

## ANEXO

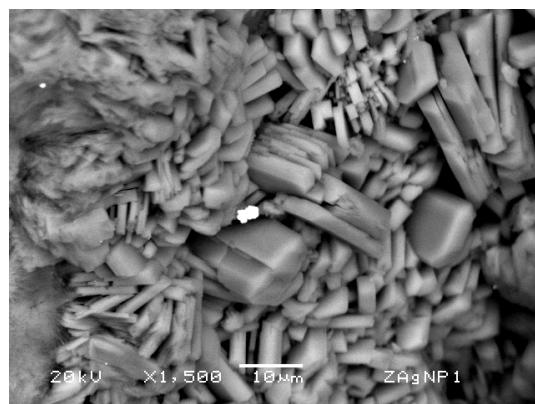
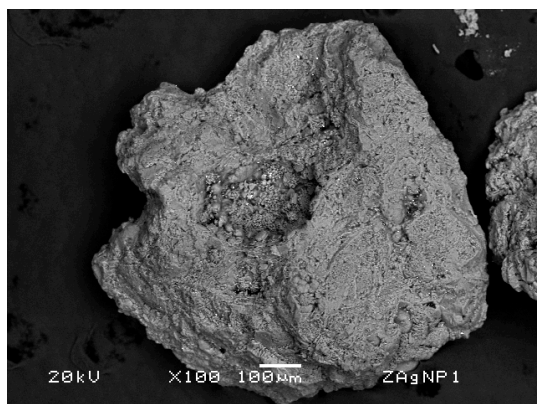
### Anexo 1. Caracterización de los materiales zeolíticos.

A. Pruebas preliminares de la formación de nanopartículas con extracto de toronja observado mediante MEB, obtenido de la cáscara y la pulpa promueve la acumulación de los iones plata (contrastes blancos pequeños) en el material zeolítico. La concentración de Ag es ligeramente más alta para ZAgNP3 ( $5.0 \pm 0.1$  % en peso) comparado con ZAgNP1 ( $4.6 \pm 0.4$  %) y ZAgNP4 ( $4.7 \pm 0.2$  %) y solo 0.4% por debajo de la técnica 2 ZAgNP2 ( $6.0 \pm 0.7$  %).

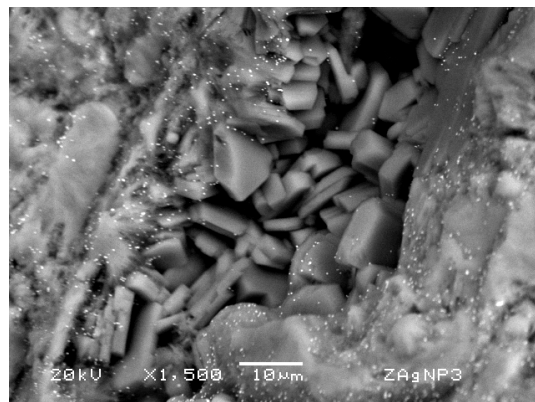
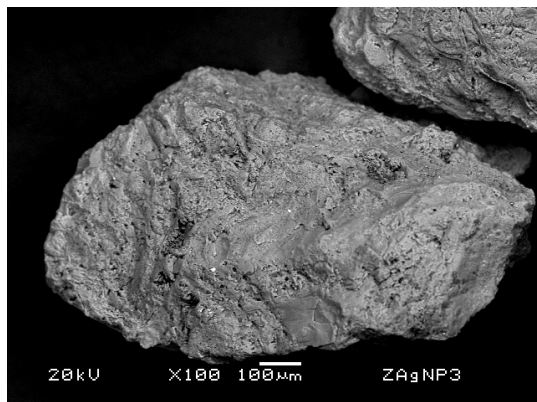
ZAgNP1



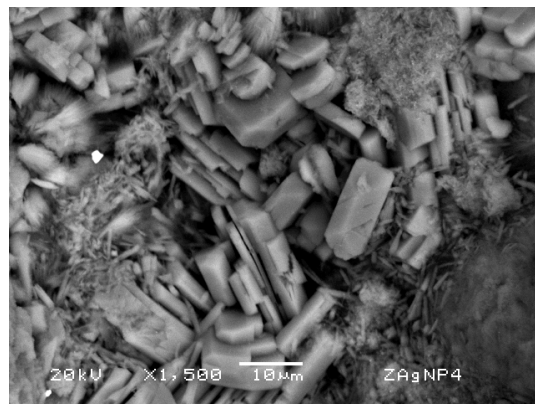
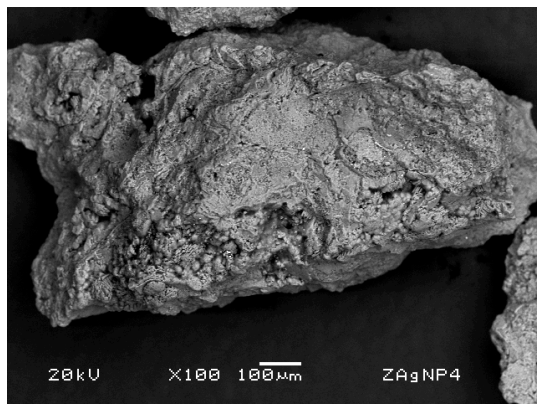
ZAgNP2



ZAgNP3

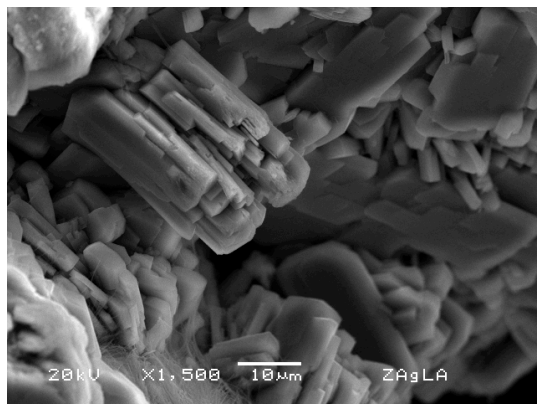
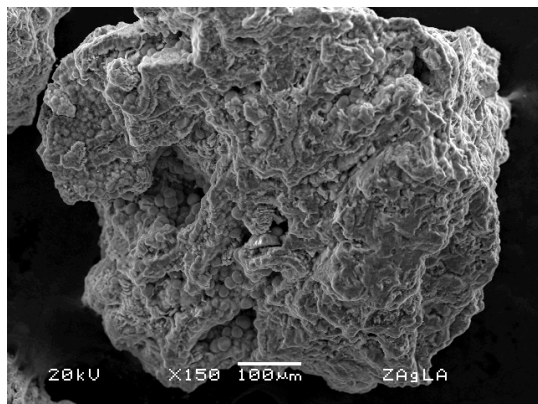


ZAgNP4

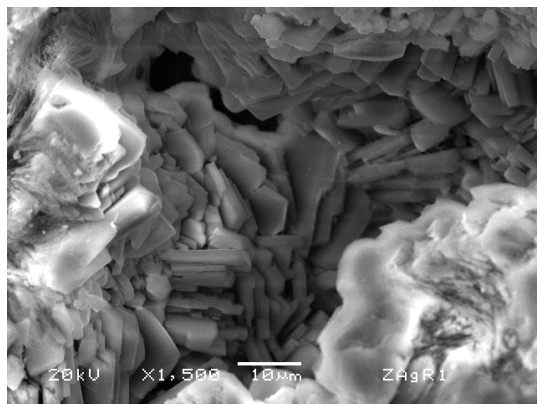
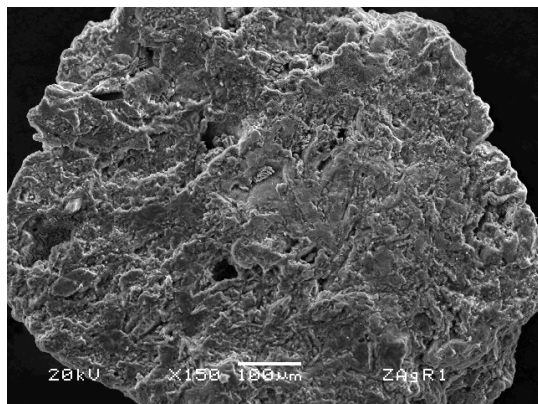


**B.** Pruebas preliminares de irradiación del material zeolítico con plasma y mediante MEB se observaron cambios aparentes en la superficie del material zeolítico ZAgLA y ZAgR1, ZAgR2, ZAgR3, ZAgR4, ZAgR5 y ZAgR6. Además de la formación de cúmulos micrométricos de plata en R1 (concentración de Ag de  $5.4 \pm 0.6$  % de peso), R2 ( $7.4 \pm 0.9$  %), R3 ( $5.3 \pm 0.4$  %), R4 ( $5.8 \pm 0.9$  %) y R5 ( $7.8 \pm 3.2$  %) y los contrastes propios de la plata en nanopartículas en R6 ( $6.5 \pm 1.5$  %). Mientras que para ZAgLA, la presencia de cúmulos y contrastes de plata fueron prácticamente nulos ( $5.67 \pm 0.3$  %).

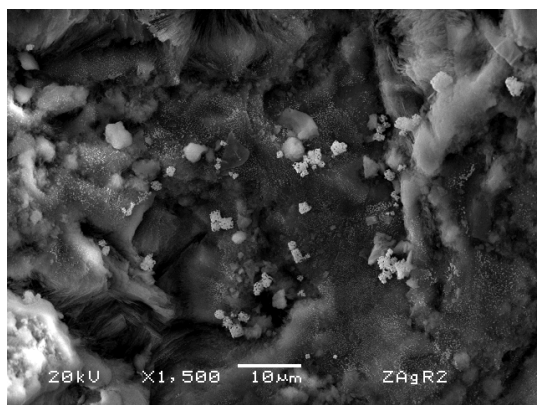
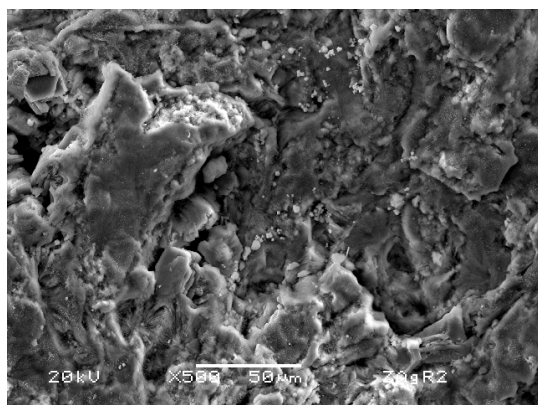
ZAgLA



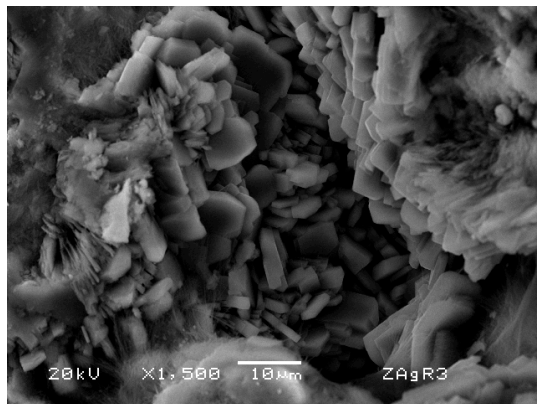
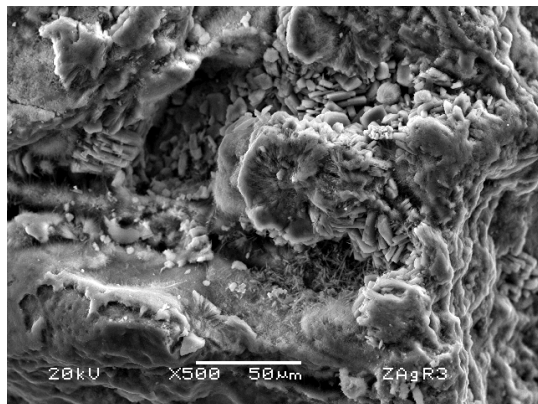
R1



R2

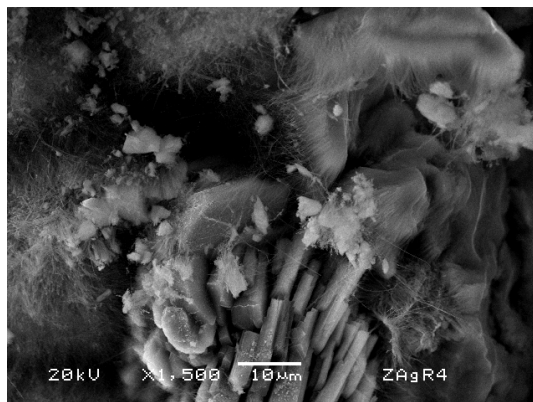
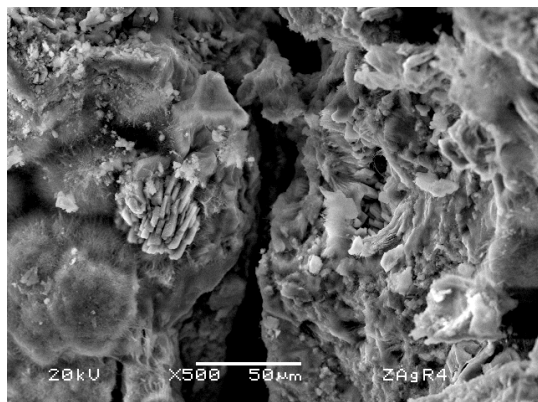


R3

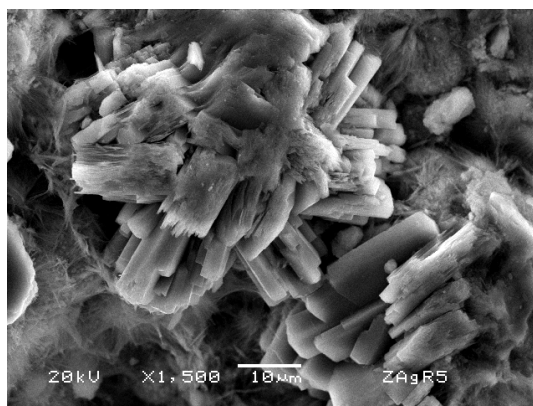
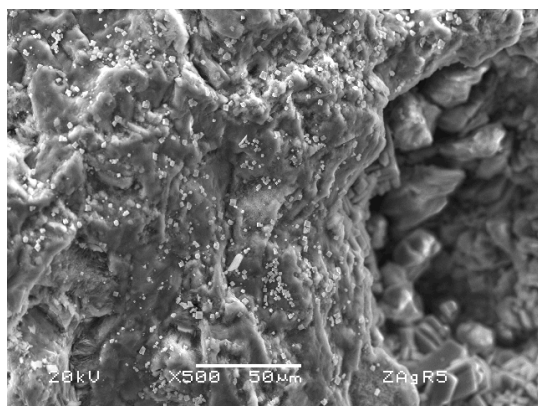




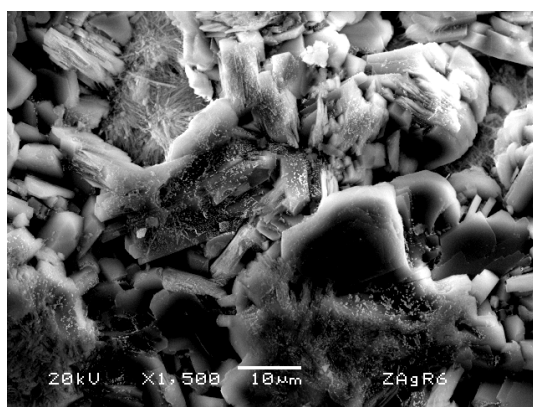
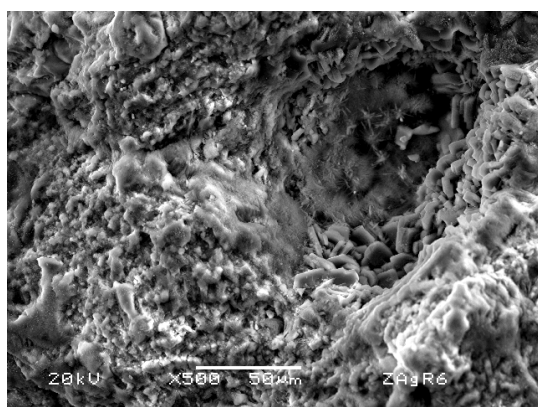
R4



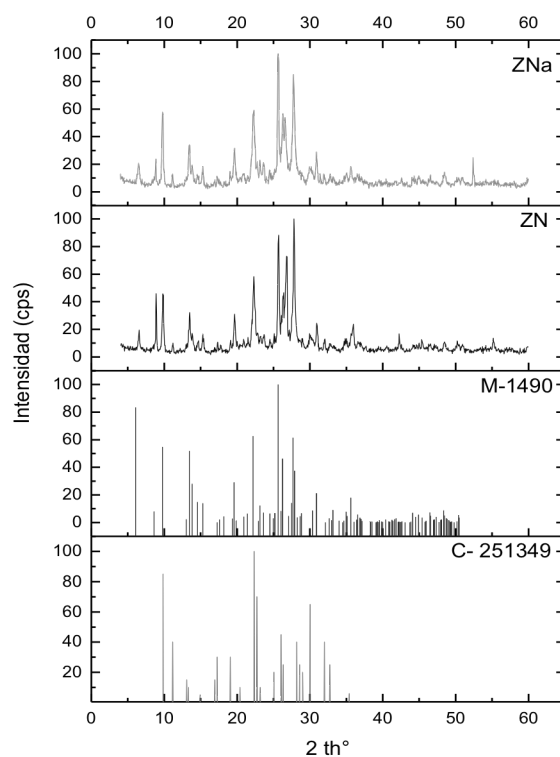
R5



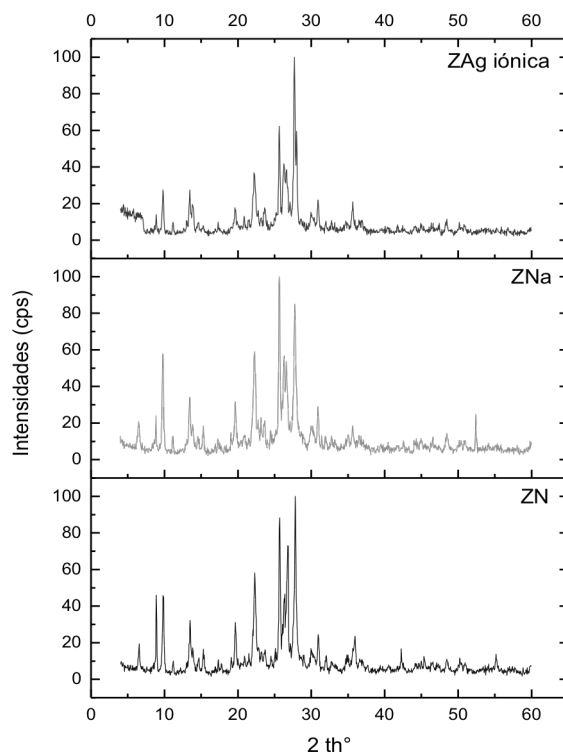
R6



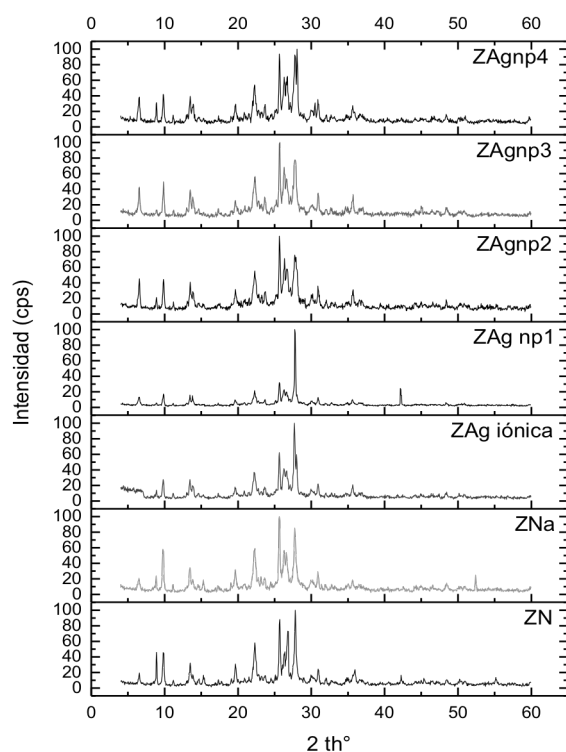
**C. Patrón de difracción de rayos-X de la ZN y de referencia clinoptilolita y mordenita.**



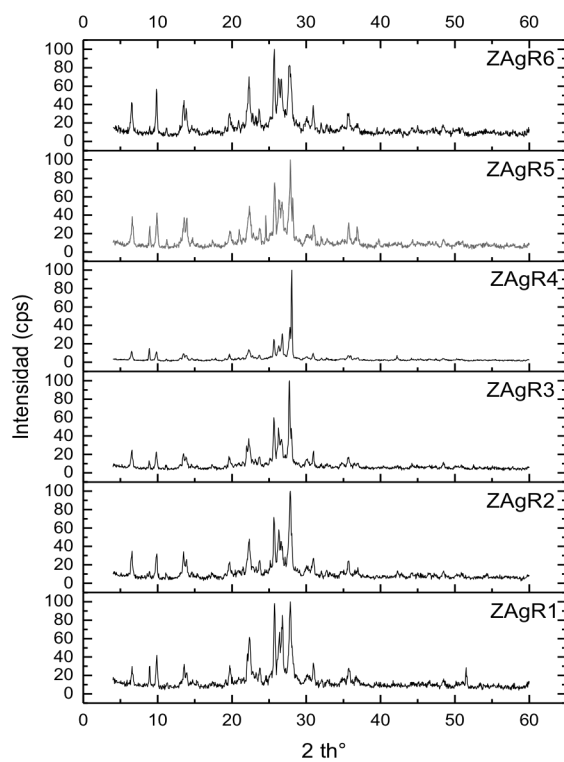
**D. Patrones de difracción de rayos- X de la ZAg comparado con aquellos de la ZN y ZNa.**



**E.** Caracterización por Difracción de Rayos-X del material zeolítico de plata tratada con extracto de toronja ZAgnpT comparados con los de la ZN, ZNa y ZAg.



**F.** Caracterización por Difracción de Rayos-X del material zeolítico de plata mediante irradiación con plasma.



**G.** Comparación de los porcentajes de la composición elemental de los minerales zeolíticos mediante dos técnicas semicuantitativa (EDS) y cuantitativa (XPS).

	<b>ZN</b>	<b>ZNa</b>	<b>ZAgiónica</b>	<b>ZAgnpT</b>	<b>ZAgnpP</b>
<b>Elemento</b>	<b>EDS (%)</b>				
<b>O</b>	47.8 ± 0.55	48.3 ± 0.94	45.7 ± 1.09	47.73±3.17	46.24±2.10
<b>Na</b>	2.4 ± 0.10	3.0 ± 0.03	2.0 ± 0.11	1.77±0.21	1.96±0.21
<b>Mg</b>	0.1 ± 0.06	0.0 ± 0.02	0.1 ± 0.02	0.17±0.05	0.17±0.12
<b>Al</b>	9.8 ± 2.43	7.3 ± 0.36	6.5 ± 0.16	6.63±0.45	6.57±0.55
<b>Si</b>	35.7 ± 1.7	38.1 ± 0.73	38.0 ± 0.56	35.23±1.97	35.54±1.10
<b>K</b>	2.0 ± 0.25	1.6 ± 0.22	1.7 ± 0.12	1.84±0.47	1.89±0.43
<b>Ca</b>	0.6 ± 0.04	0.6 ± 0.64	0.6 ± 0.02	0.58±0.15	0.59±0.08
<b>Fe</b>	1.7 ± 0.18	0.9 ± 0.20	0.8 ± 0.30	0.88±0.33	1.50±1.20
<b>Ag</b>	0	0	4.6 ± 0.37	5.17±1.01	5.53±2.30
	<b>XPS (%)</b>				
<b>O</b>	58.89	67.81	61.73	70.52	61.73
<b>Na</b>	0.77	11.74	ND	3.32	0.27
<b>Mg</b>	1.89	ND	ND	ND	0.4
<b>Al</b>	6.36	1	6.77	1.36	5.41
<b>Si</b>	25.91	8.35	26.79	7.89	26.76
<b>K</b>	0.61	1.04	ND	0.06	0.1
<b>Ca</b>	ND	0.88	ND	ND	ND
<b>Fe</b>	0.76	3.98	0.77	6.48	0.35
<b>Ag</b>	0	0	0.52	4.41	1.11

ND. No Determinado

**Anexo 2.** Concentración de plata desorbida por los materiales zeolíticos ZAgiónica, ZAgnpT y ZAgnpP.

**A.** Concentración de plata desorbida por los materiales zeolíticos frente a *E. coli* en agua desionizada.

**Agua Desionizada**

<b>mg·L<sup>-1</sup></b>	<b>Tiempo (h)</b>								
	<b>0</b>	<b>0.125</b>	<b>0.25</b>	<b>0.5</b>	<b>0.75</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>5</b>
<b>ZAgiónica [Ag<sup>+</sup>]</b>	0	0.021±0.01	0.007±0.006	0.01±0.001	0.009±0.002	0.008±0.005	0.008±0.003	0.01±0.006	0.008±0.003
<b>ZAgnpT [Ag<sup>+</sup>]</b>	0	0.01±0.003	0.008±0.004	0.009±0.004	0.01±0.003	0.01±0.001	0.01±0.001	0.01±0.004	0.01±0.003
<b>ZAgnpP [Ag<sup>+</sup>]</b>	0	0.004±0.003	0.009±0.002	0.004±0.003	0.009±0.001	0.01±0.004	0.009±0.002	0.009±0.006	0.01±0.001

**B.** Concentración de plata desorbida por los materiales zeolíticos frente a *E. faecalis* en agua desionizada.

**Agua Desionizada**

<b>mg·L<sup>-1</sup></b>	<b>Tiempo (h)</b>								
	<b>0</b>	<b>0.125</b>	<b>0.25</b>	<b>0.5</b>	<b>0.75</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>5</b>
<b>ZAgiónica [Ag<sup>+</sup>]</b>	0	0.08±0.03	0.03±0.01	0.05±0.006	0.05±0.01	0.06±0.01	0.06±0.02	0.04±0.005	0.09±0.06
<b>ZAgnpT [Ag<sup>+</sup>]</b>	0	0	0.01±0.001	0.001±0.009	0	0.04±0.04	0.04±0.003	0.11±0.03	0.1±0.02
<b>ZAgnpP [Ag<sup>+</sup>]</b>	0	0.06±0.001	0.04±0.01	0.04±0.001	0.03±0.005	0.04±0.02	0.08±0.005	0.09±0.01	0.1±0.05

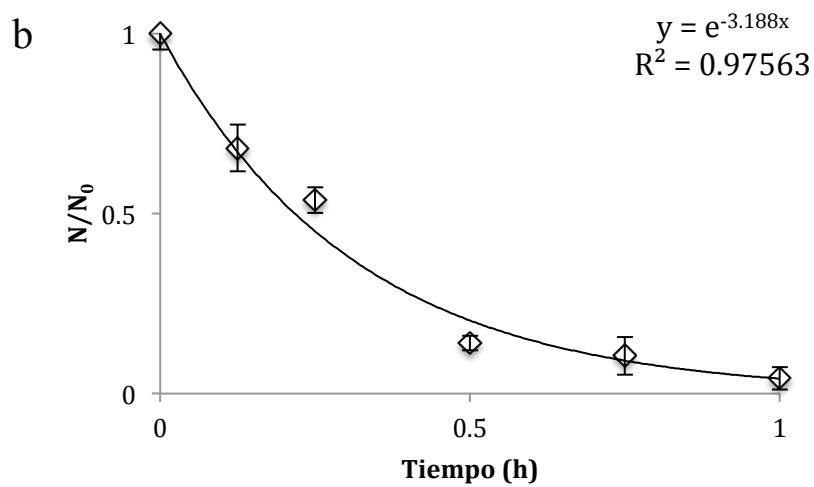
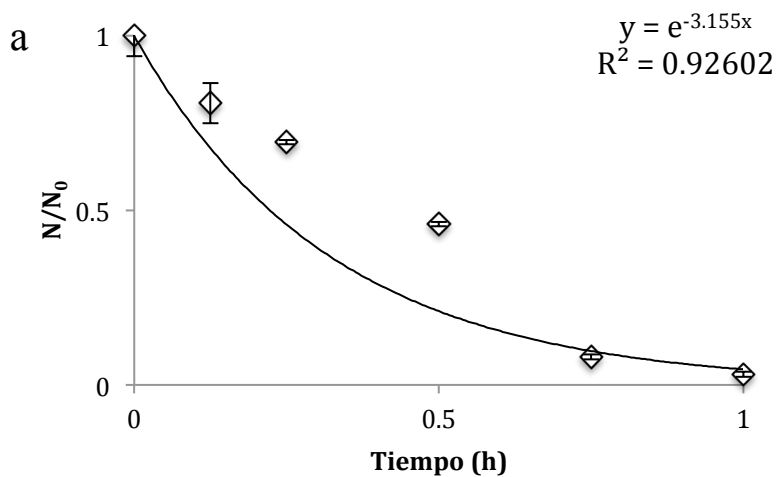
C. Concentración de plata desorbida por los materiales zeolíticos frente a *C. albicans* en agua desionizada.

**Agua Desionizada**

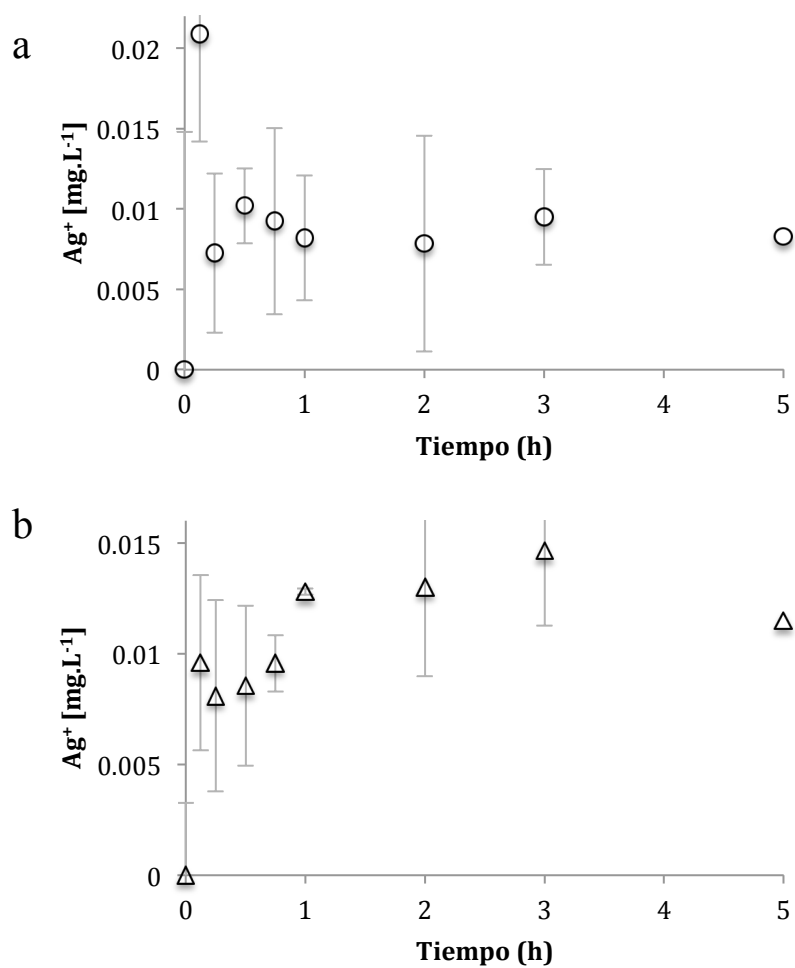
<b>mg·L<sup>-1</sup></b>	<b>Tiempo (h)</b>								
	<b>0</b>	<b>0.125</b>	<b>0.25</b>	<b>0.5</b>	<b>0.75</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>5</b>
<b>ZAgiónica [Ag<sup>+</sup>]</b>	0	0.19+0.1	0.13+0.04	0.09+0.04	0.11+0.04	0.13+0.03	0.14+0.01	0.08+0.03	0.15+0.01
<b>ZAgnpT [Ag<sup>+</sup>]</b>	0	0.08+0.01	0.07+0.01	0.08+0.01	0.1+0.01	0.11+0.01	0.13+0.01	0.12+0.07	0.15+0.01
<b>ZAgnpP [Ag<sup>+</sup>]</b>	0	0.19+0.01	0.07+0.01	0.07+0.04	0.09+0.05	0.1+0.02	0.12+0.04	0.15+0.01	0.18+0.02

**Anexo 3.** Cinéticas de desinfección de *E. coli*, *E. faecalis* y *C. albicans*, cinéticas de desorción y modelos de difusión frente a los materiales zeolíticos en agua desionizada.

**A.** Cinética de desinfección de *E. coli* en agua desionizada frente a ZAgiónica (a) y ZAgnpT (b).

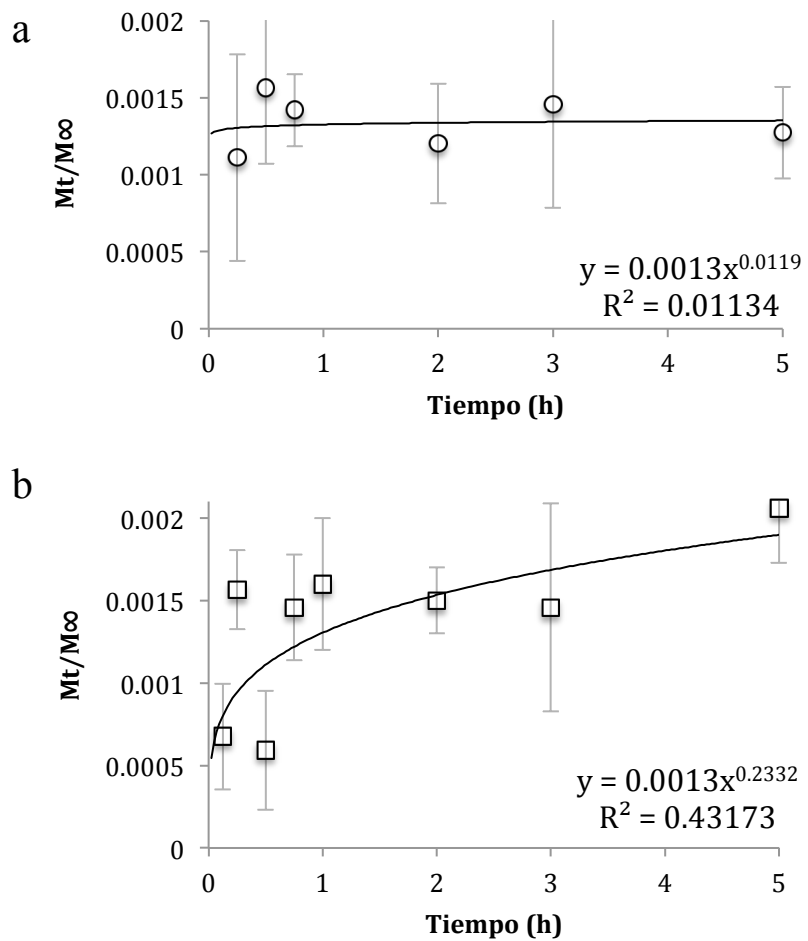


**B.** Desorción de plata por el material ZAgiónica (a) y ZAgnpT (b) en agua desionizada con respecto al tiempo frente a *E. coli*.



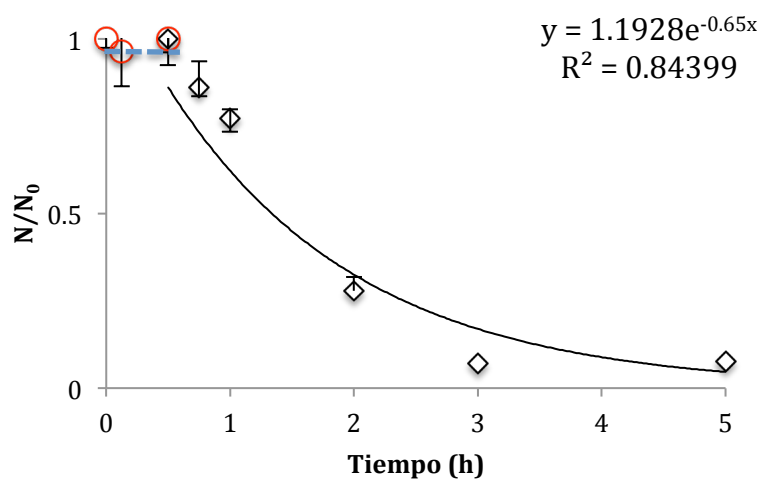


C. Modelo de difusión de plata de *Korsmeyer- Peppas* por el material ZAgiónica (a) y ZAgnpP (b) en agua desionizada con respecto al tiempo frente a *E. coli*.

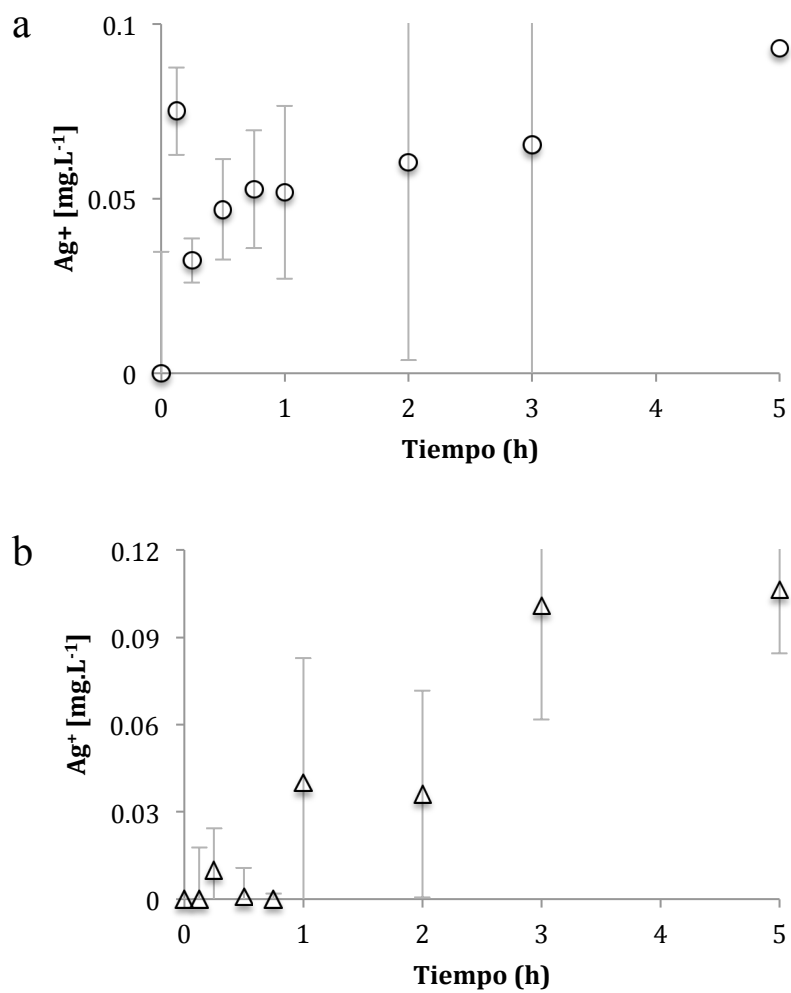


**D.** Cinética de desinfección de *E. faecalis* en agua desionizada frente a ZAgiónica.

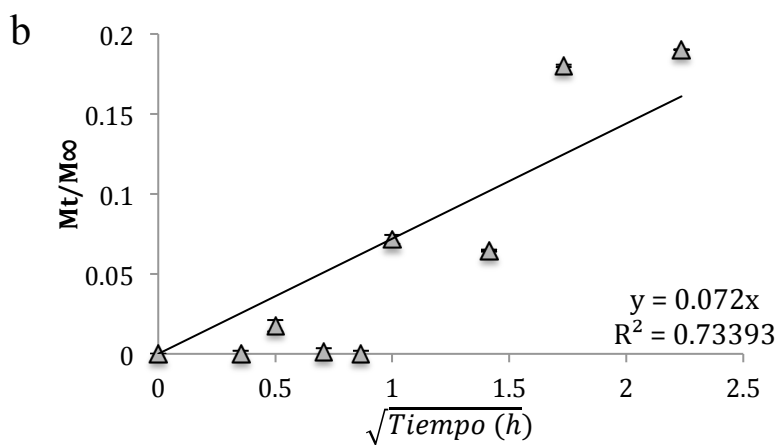
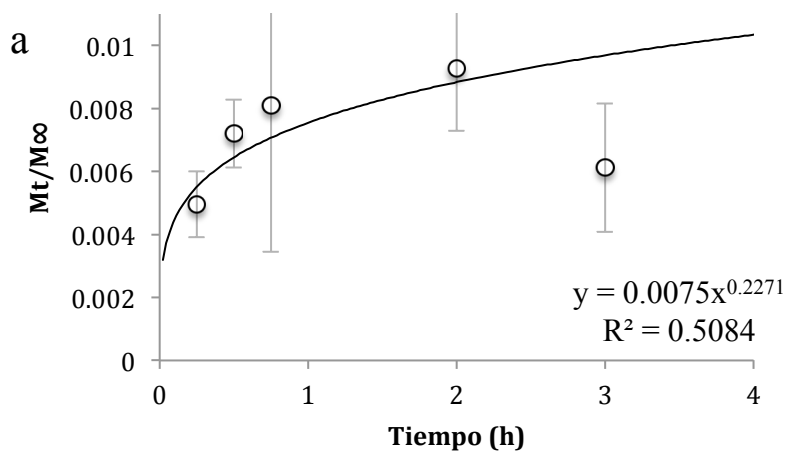
○ y ----  $t_{lat}$  (fase de lag). ◇ Inicio cinética desinfección.



E. Desorción de plata por el material ZAgiónica (a) y ZAgnpT (b) en agua desionizada con respecto al tiempo frente a *E. faecalis*.

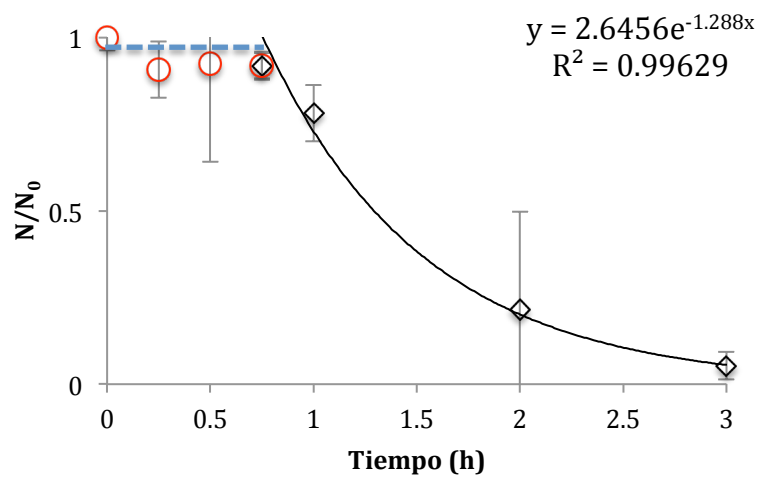


F. Modelo de difusión de plata de *Korsmeyer- Peppas* por el material ZAgiónica (a) e Higuchi (b) en agua desionizada con respecto al tiempo frente a *E. faecalis*.

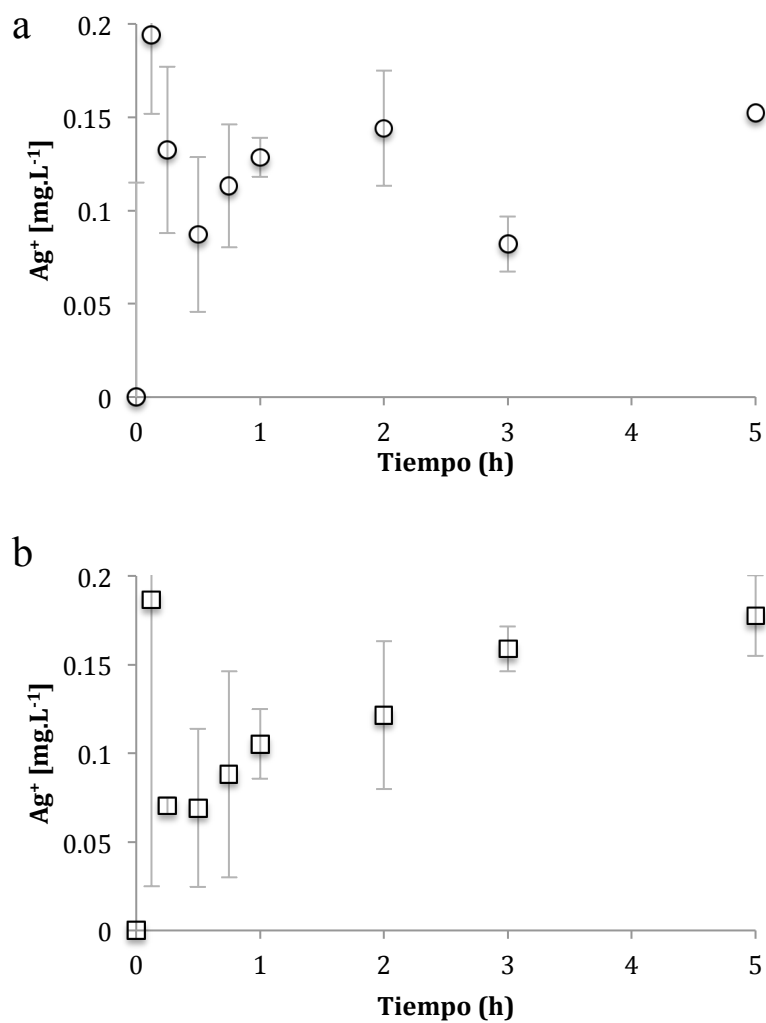


**G.** Cinética de desinfección de *C. albicans* en agua desionizada frente a ZAgiónica y ZAgnpT.

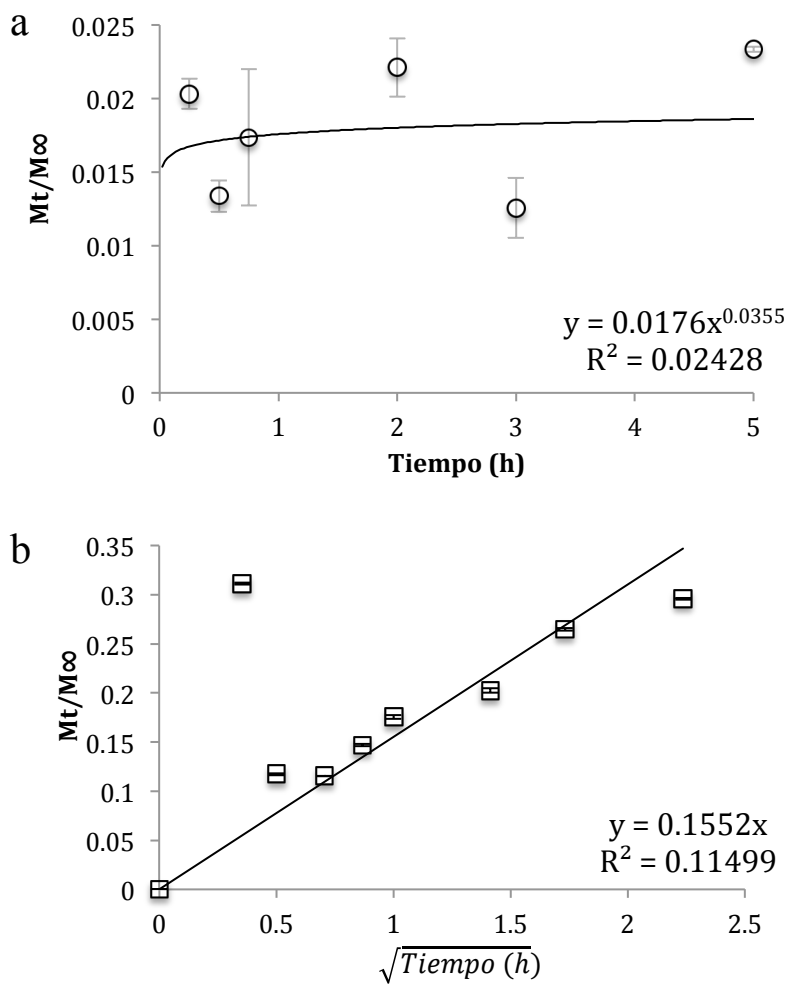
○ y ----  $t_{lat}$  (fase de lag). ◈ Inicio cinética desinfección.



H. Desorción de plata por el material ZAgiónica (a) y ZAgnpP (b) en agua desionizada con respecto al tiempo frente a *C. albicans*.

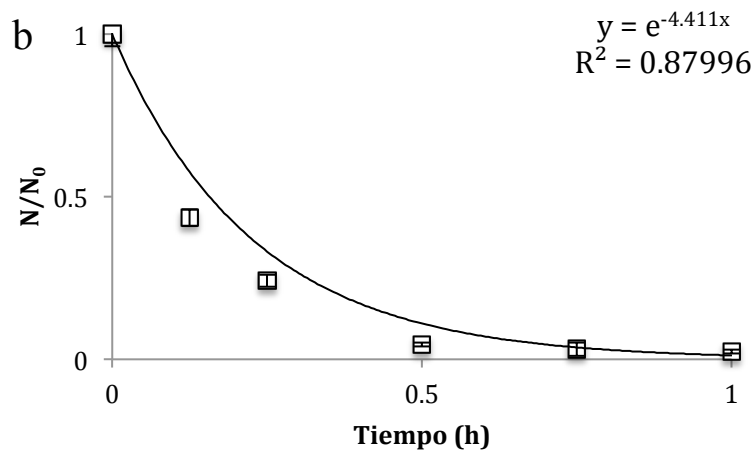
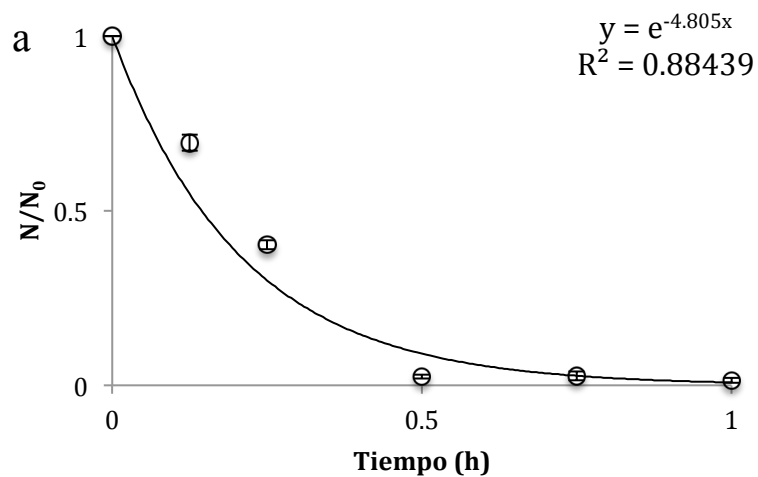


I. Modelo de difusión de plata de *Korsmeyer- Peppas* para el material ZAgiónica (a) e Higuchi para ZAgnpP (b) en agua desionizada con respecto al tiempo frente a *C. albicans*.



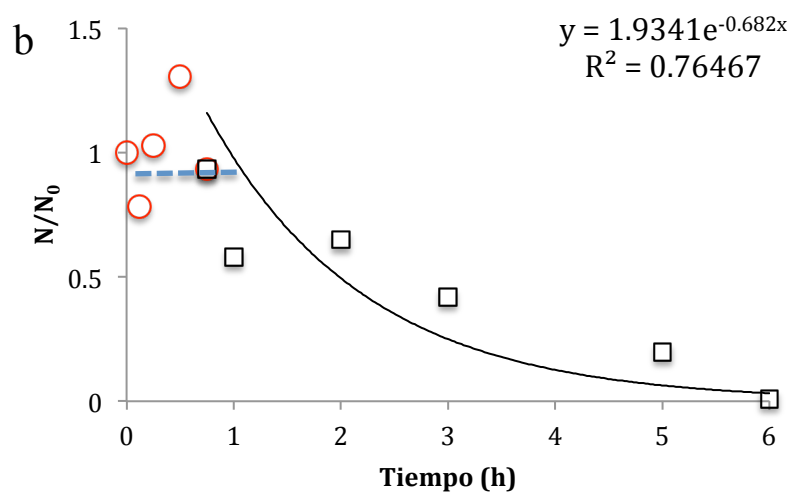
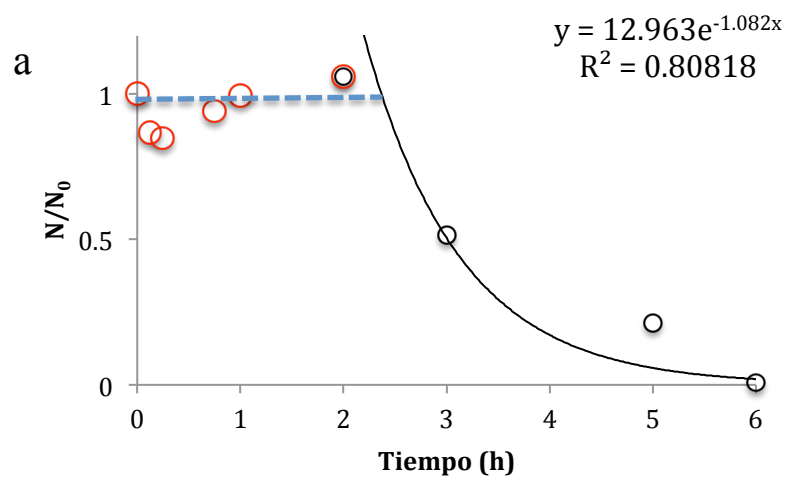
**Anexo 4.** Cinéticas de desinfección de *E. coli*, *E. faecalis* y *C. albicans*, en consorcio y cinéticas de desorción y modelos de difusión frente a los materiales zeolíticos en agua desionizada.

**A.** Cinética de desinfección de *E. coli*- ZAgiónica (a) y ZAgnpP (b) en el consorcio en agua desionizada.

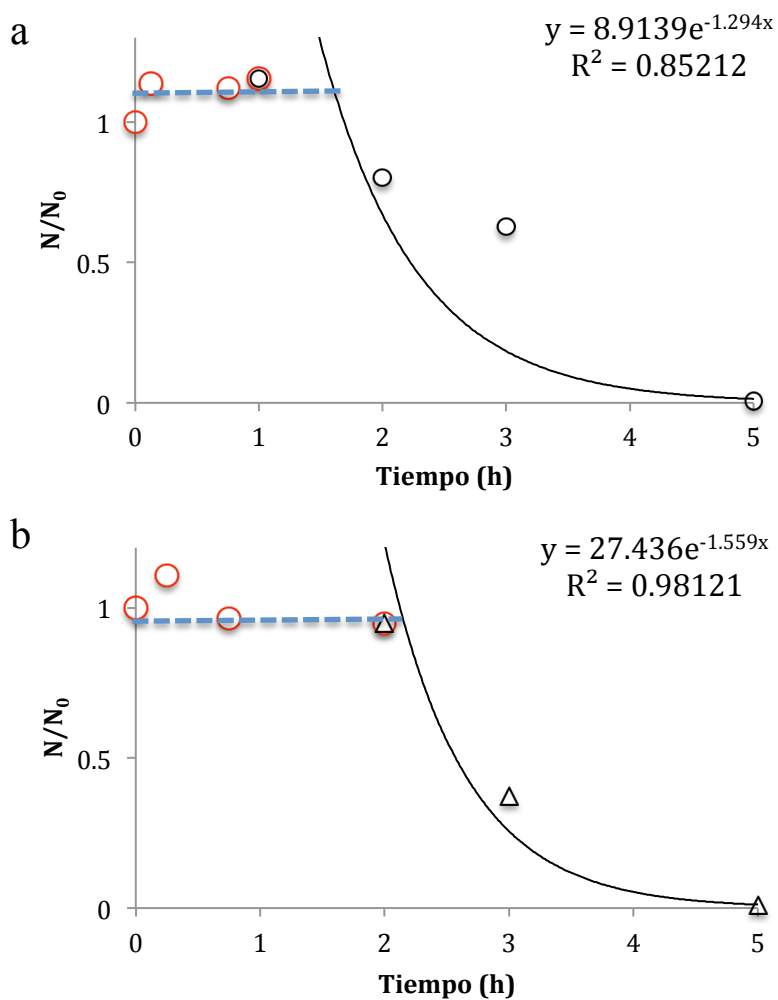




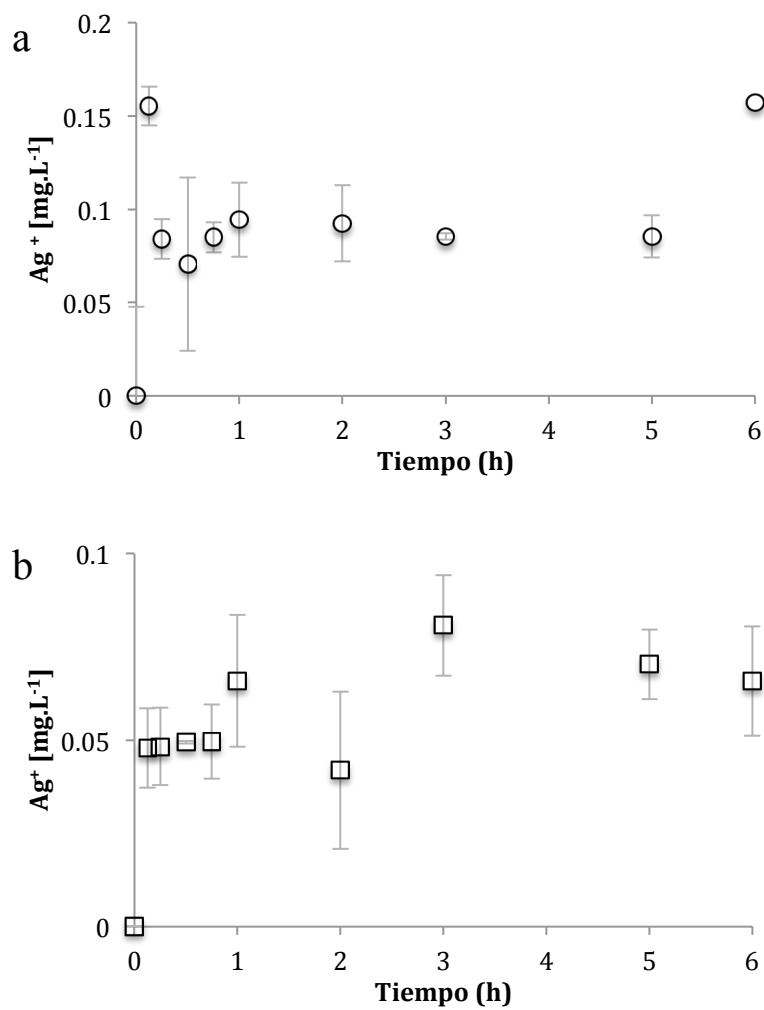
**B.** Cinética de desinfección de *E. faecalis*- ZAgiónica(a) y ZAgnpP (b) en el consorcio en agua desionizada. ○ y ---  $t_{lat}$  (fase de lag). ◻ Inicio cinética desinfección.



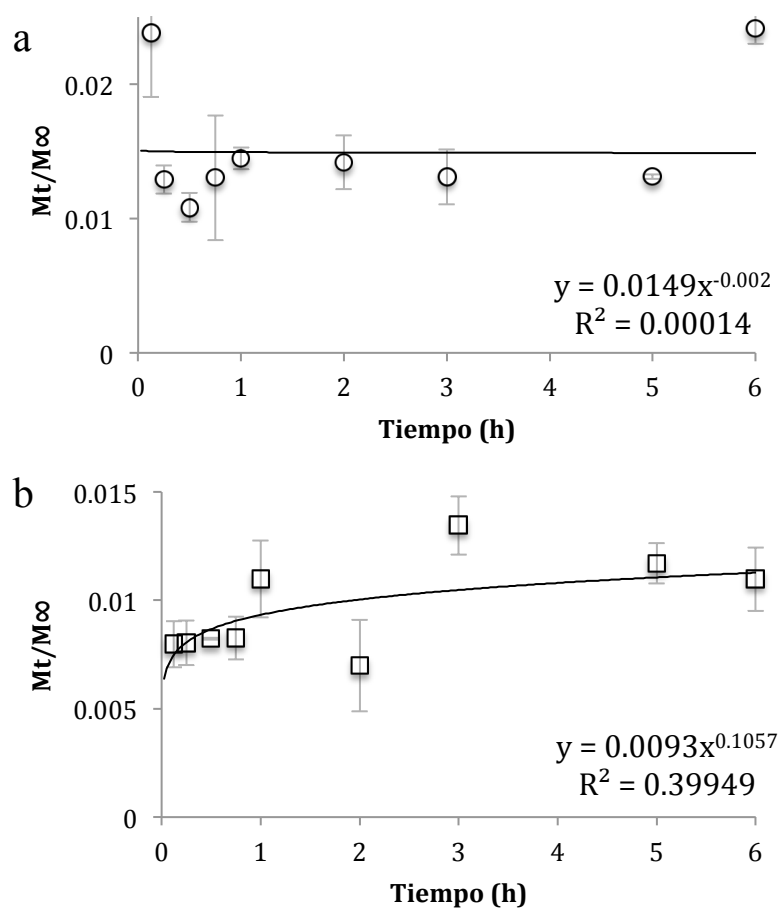
C. Cinética de desinfección de *C. albicans*- ZAgiónica (a) y ZAgnpT (b) en el consorcio en agua desionizada. ○ y ----  $t_{lat}$  (fase de lag). △ Inicio cinética desinfección.



**D.** Desorción de plata por el material ZAgiónica (a) y ZAgnpP (b) en agua desionizada con respecto al tiempo frente al consorcio.

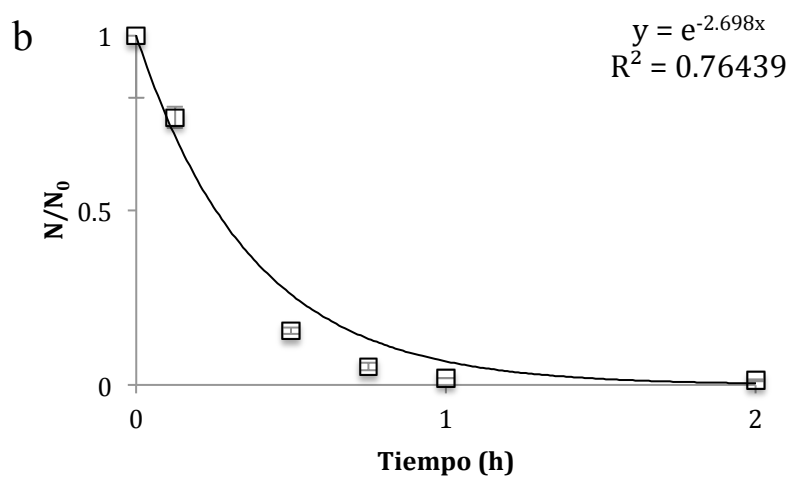
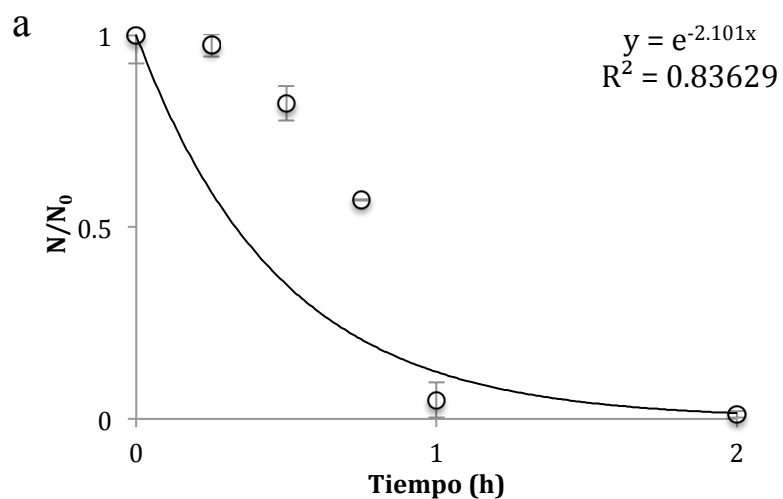


E. Modelo de difusión de plata de *Korsmeyer- Peppas* por el material ZAgiónica y ZAgnpP en agua desionizada con respecto al tiempo frente al consorcio.



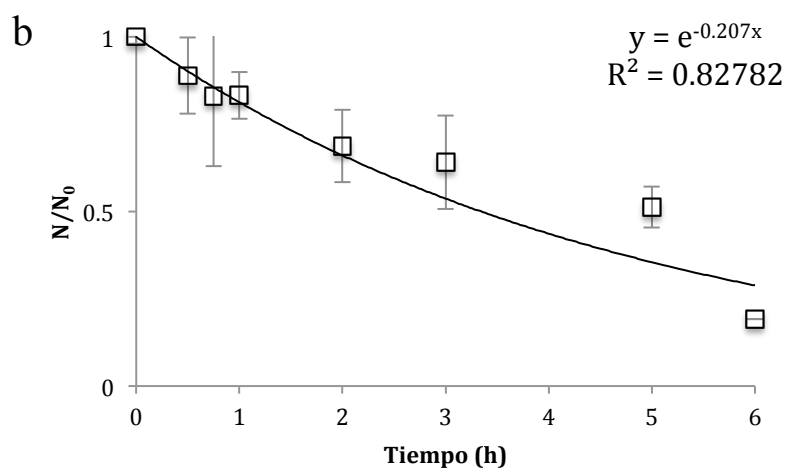
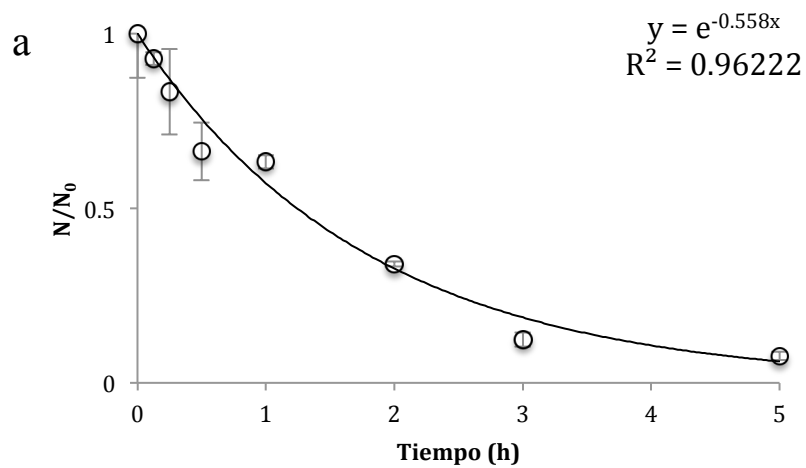
**Anexo 5.** Cinéticas de desinfección del consorcio microbiano y cinéticas de desorción, remoción y modelos de difusión de  $\text{Ag}^+$  de los materiales zeolíticos en agua desionizada con Fe y Mn.

**A.** Cinética de desinfección de *E. coli*- ZAgiónica (a) y ZAgnpP (b) en el consorcio en agua desionizada en presencia de  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$ .



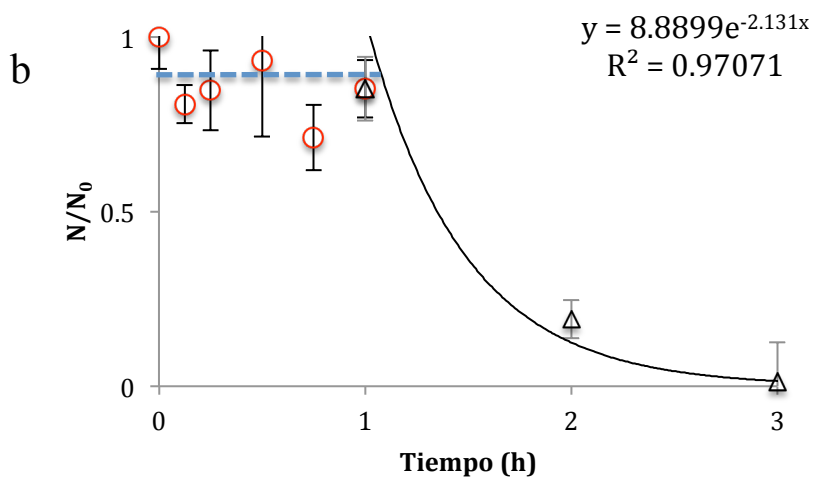
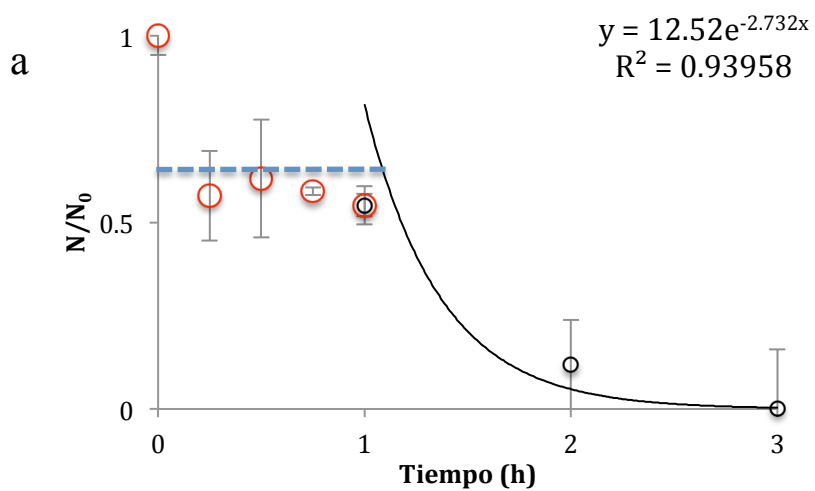
**B.** Cinética de desinfección de *E. faecalis*- ZAgiónica(a) y ZAgnpP(b) en el consorcio en agua desionizada en presencia de  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$ .

○ y ----  $t_{lat}$  (fase de lag). ◻ Inicio cinética desinfección.

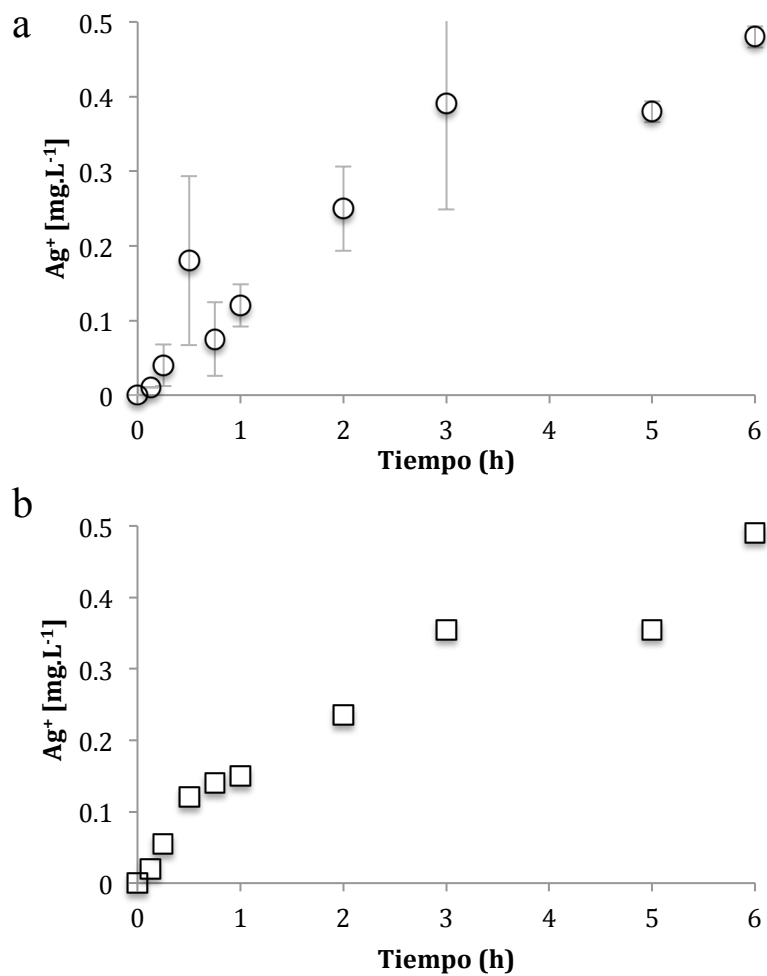


C. Cinética de desinfección de *C. albicans*- ZAgiónica (a) y ZAgnpT (b) en el consorcio en agua desionizada en presencia de  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$ .

○ y ----  $t_{lat}$  (fase de lag). ◊ Inicio cinética desinfección.

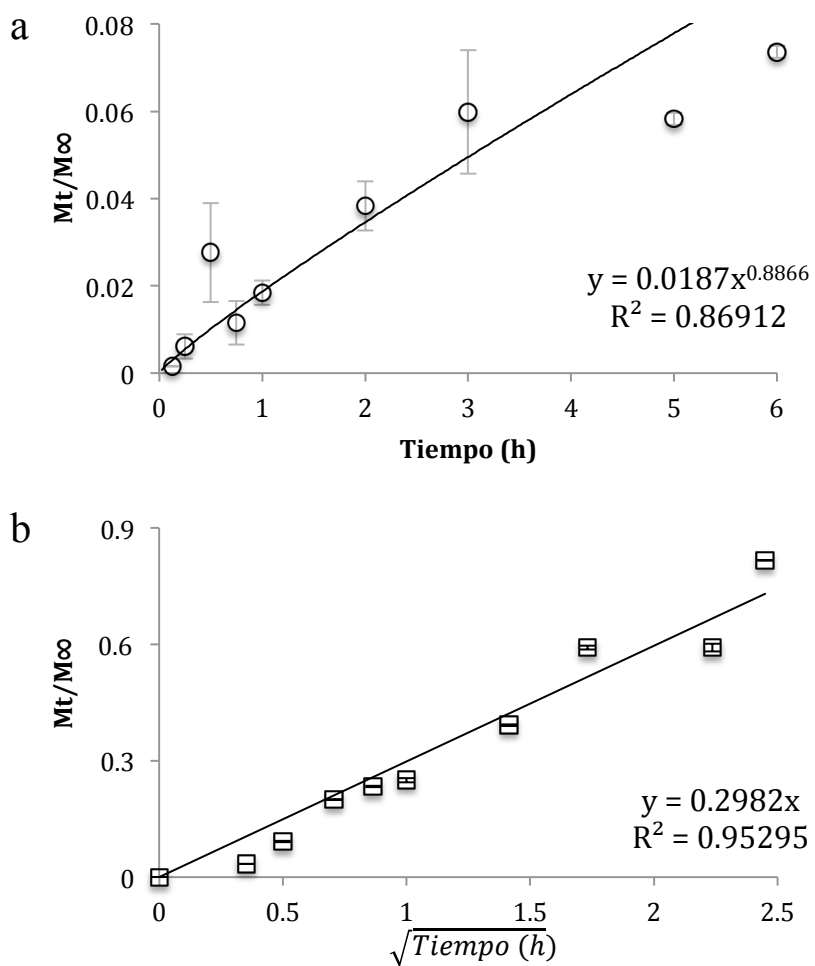


**D.** Desorción de plata por el material ZAgiónica (a) y ZAgnpP (b) en agua desionizada con  $\text{Mn}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$  con respecto al tiempo frente al consorcio microbiano.

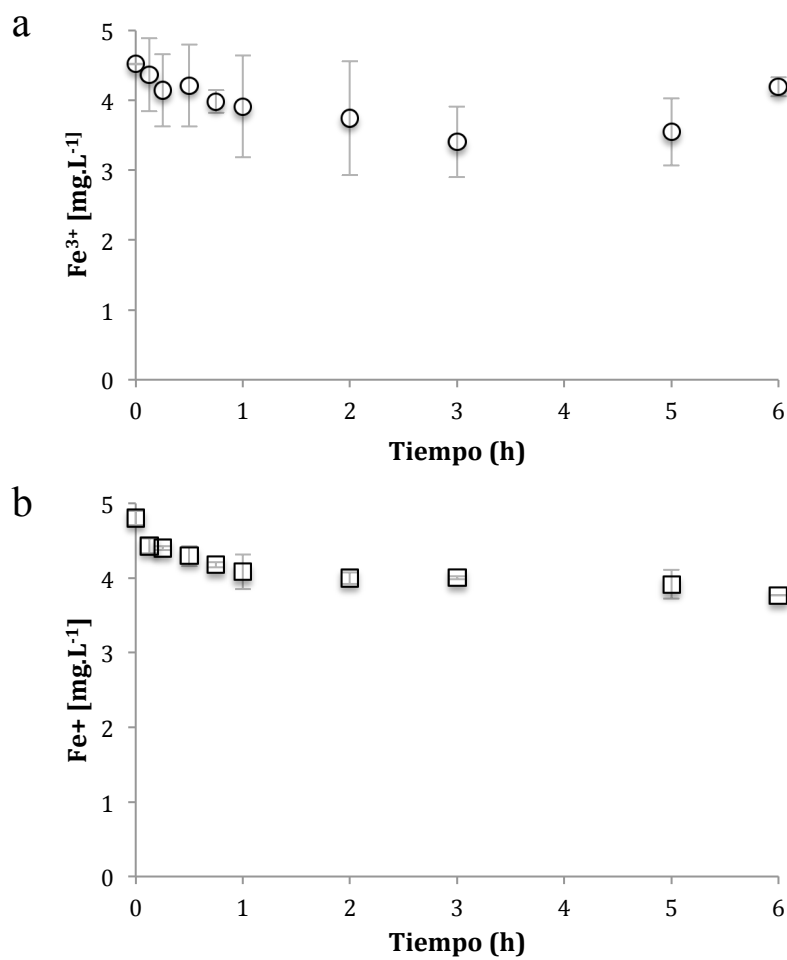




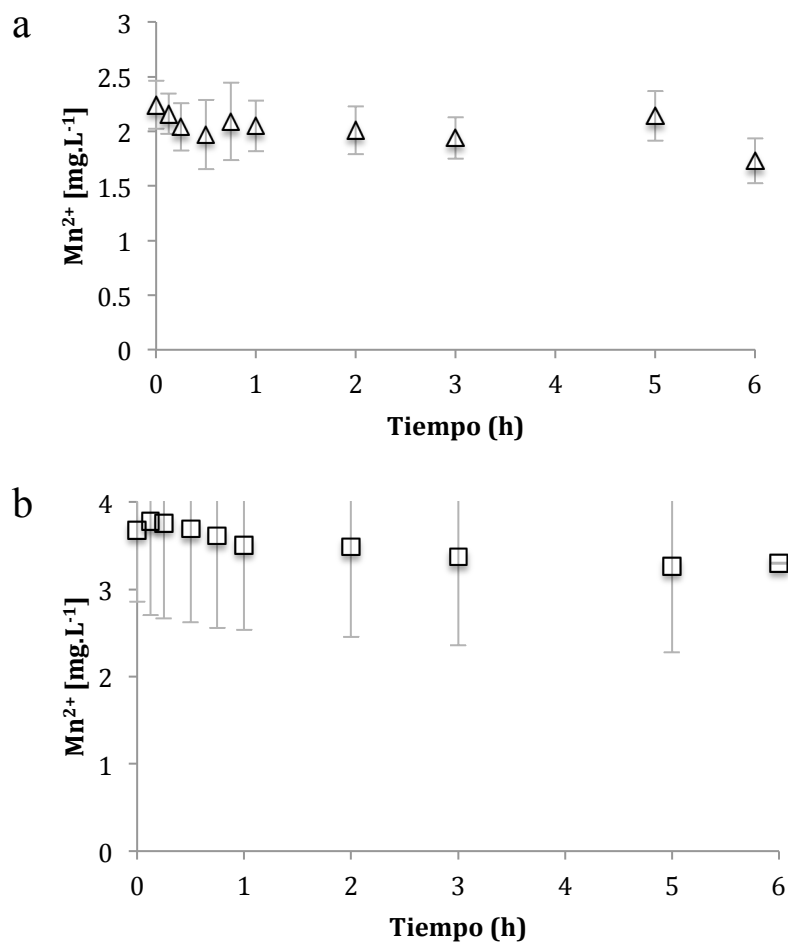
E. Modelo de difusión de plata de *Korsmeyer- Peppas* por el material ZAgiónica (a) e Higuchi para ZAgnpP (b) en agua desionizada con  $Mn^{2+}$  y  $Fe^{3+}$  con respecto al tiempo frente al consorcio microbiano.



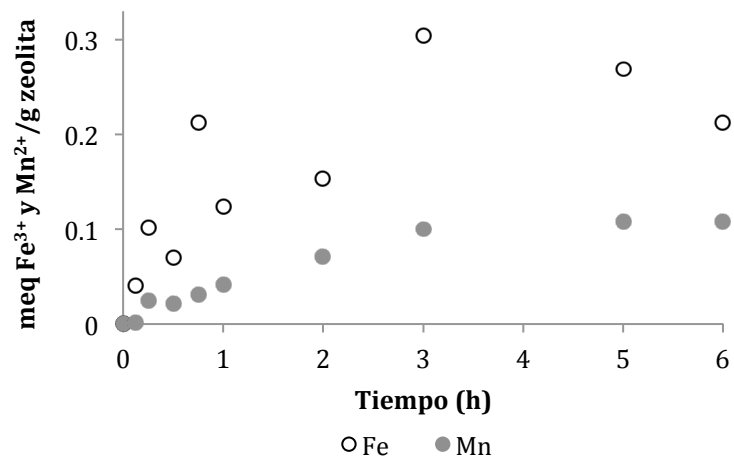
F. Remoción de hierro por ZAgiónica (a) y ZAgnpP (b) en agua desionizada con  $\text{Mn}^{2+}$  y  $\text{Fe}^3$  con respecto al tiempo frente al consorcio microbiano.



**G.** Remoción de manganeso por ZAgnpT (a) y ZAgnpP (b) en agua desionizada con  $\text{Mn}^{2+}$  y  $\text{Fe}^3$  con respecto al tiempo frente al consorcio microbiano.

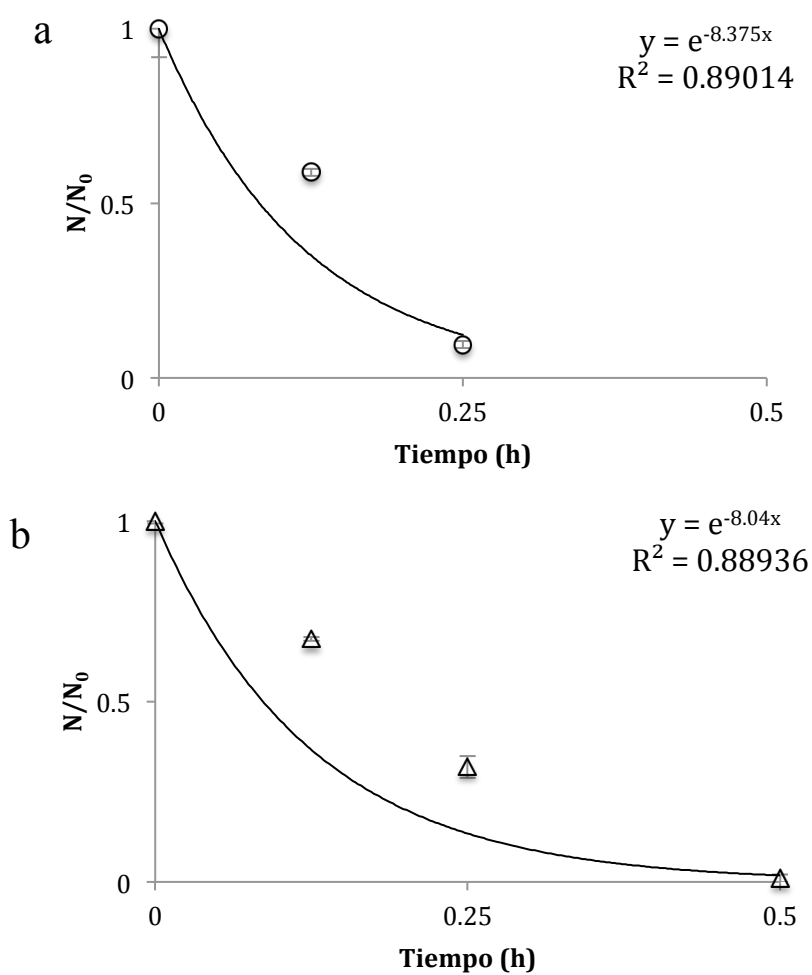


**H.** Sorción de Hierro y Manganese por el material zeolítico ZAgiónica en agua desionizada con  $\text{Mn}^{2+}$  y  $\text{Fe}^3$  con respecto al tiempo frente al consorcio microbiano.

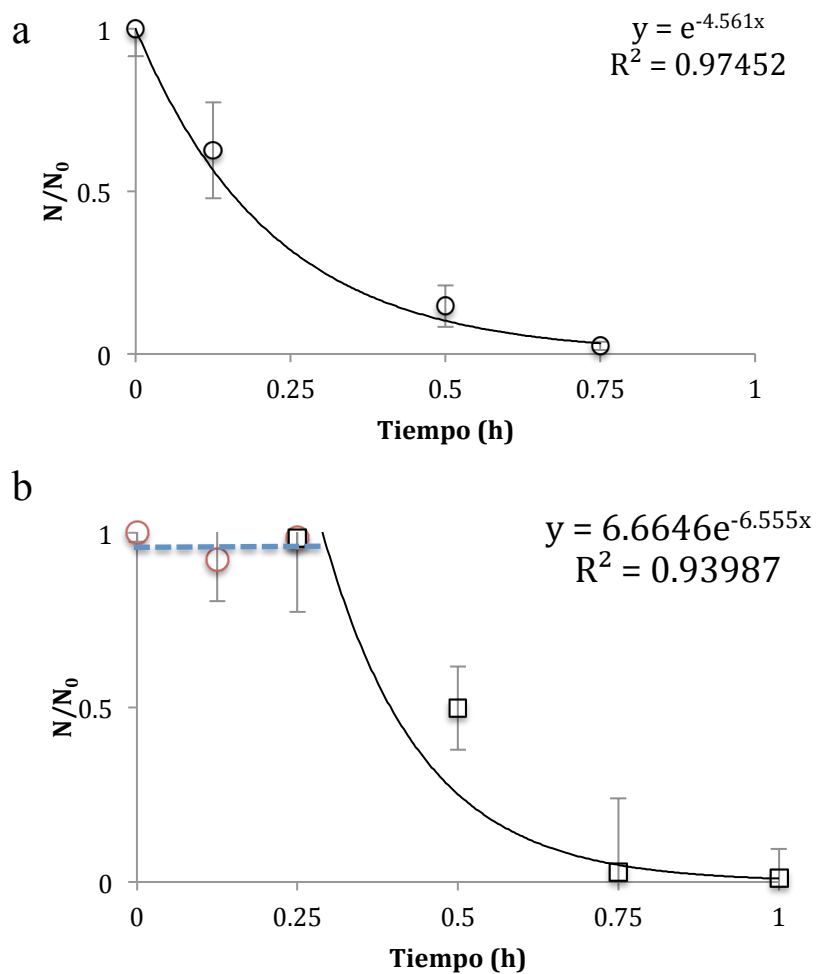


**Anexo 6.** Cinéticas de desinfección del consorcio microbiano y cinéticas de desorción, remoción y modelos de difusión de  $\text{Ag}^+$  de los materiales zeolíticos ZAgiónica (a) y ZAgnpT (b) en agua de pozo.

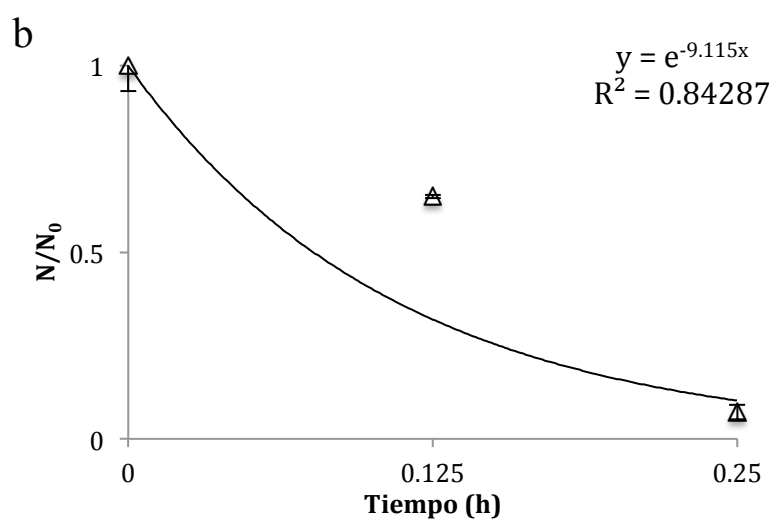
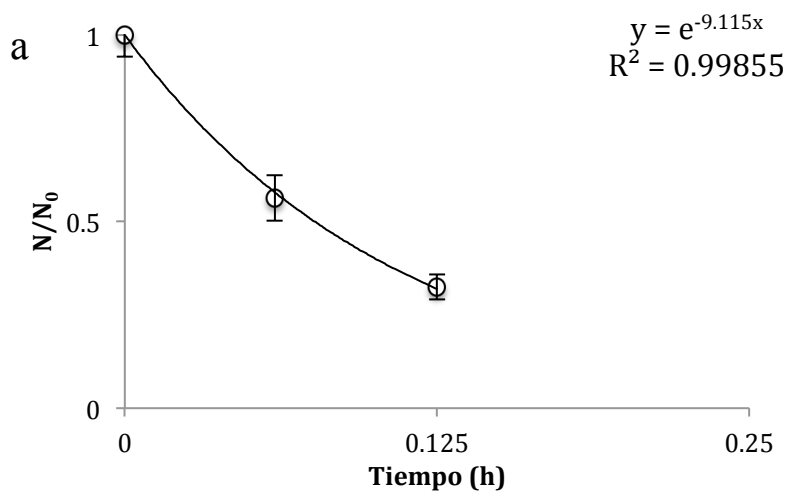
**A.** Cinética de desinfección de *E. coli*- ZAgiónica (a) y ZAgnpT (b) en el consorcio en agua de pozo.



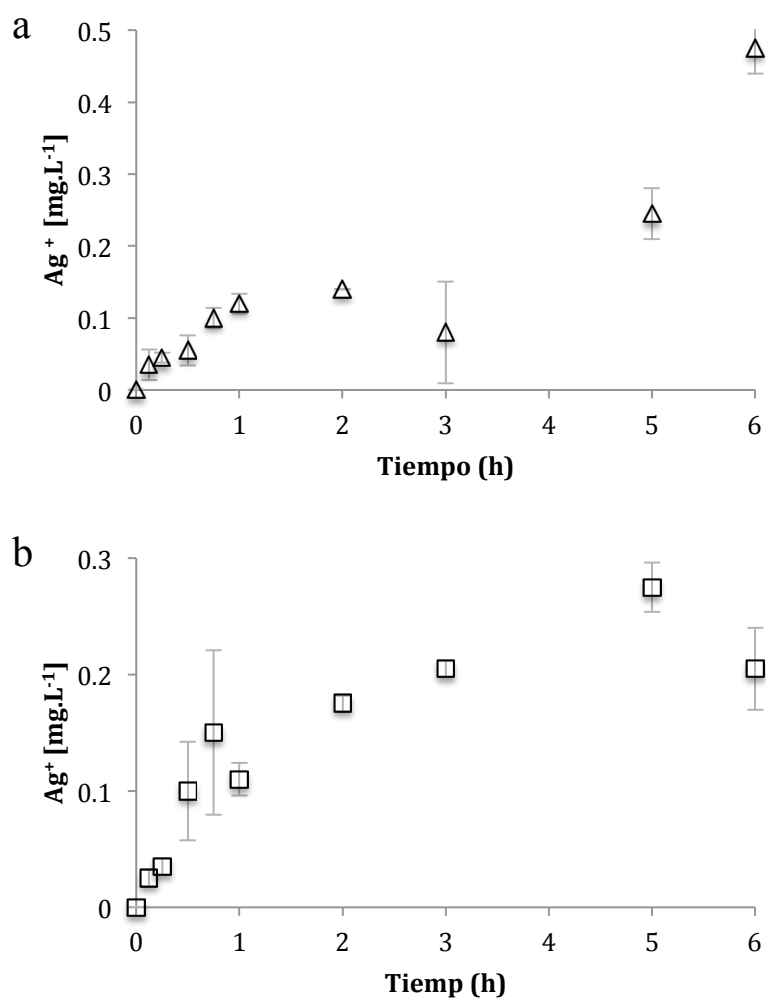
**B.** Cinética de desinfección de *E. faecalis*- ZAgiónica (a) y ZAgnpP (b) en el consorcio en agua de pozo. ○ y ----  $t_{lat}$  (fase de lag). ◻ Inicio cinética desinfección.



C. Cinética de desinfección de *C. albicans*- ZAgiónica (a) y ZAgnpT (b) en el consorcio en agua de pozo.

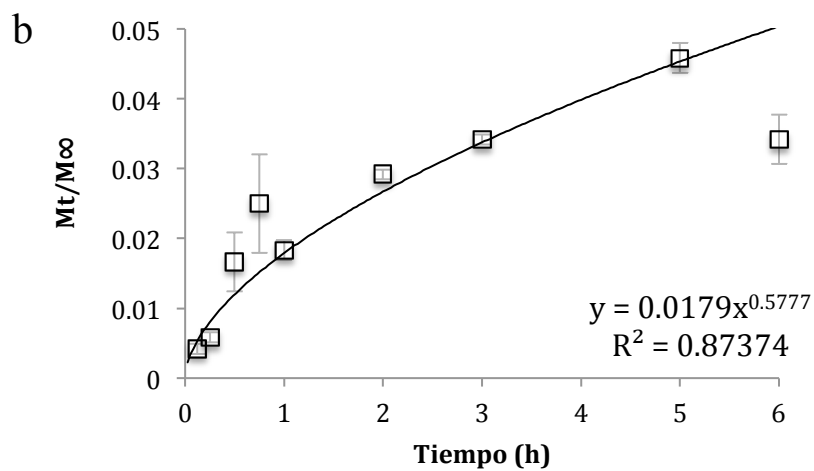
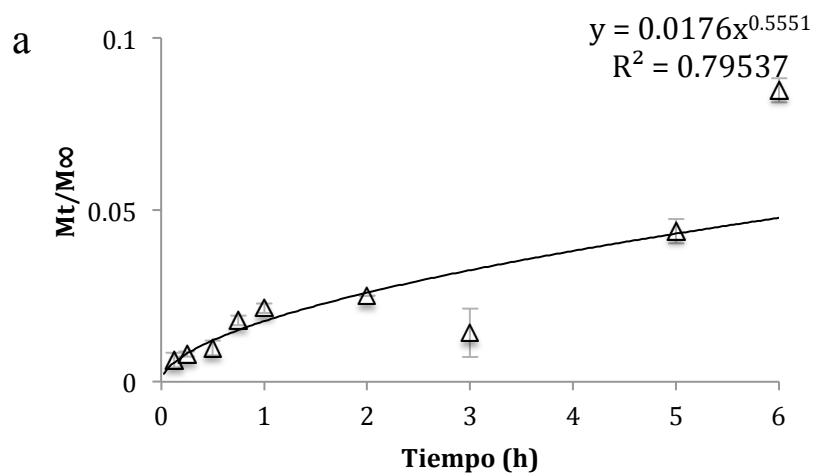


**D.** Desorción de plata por el material ZAgiónica (a) y ZAgnpT (b) en agua de pozo con respecto al tiempo frente al consorcio microbiano.

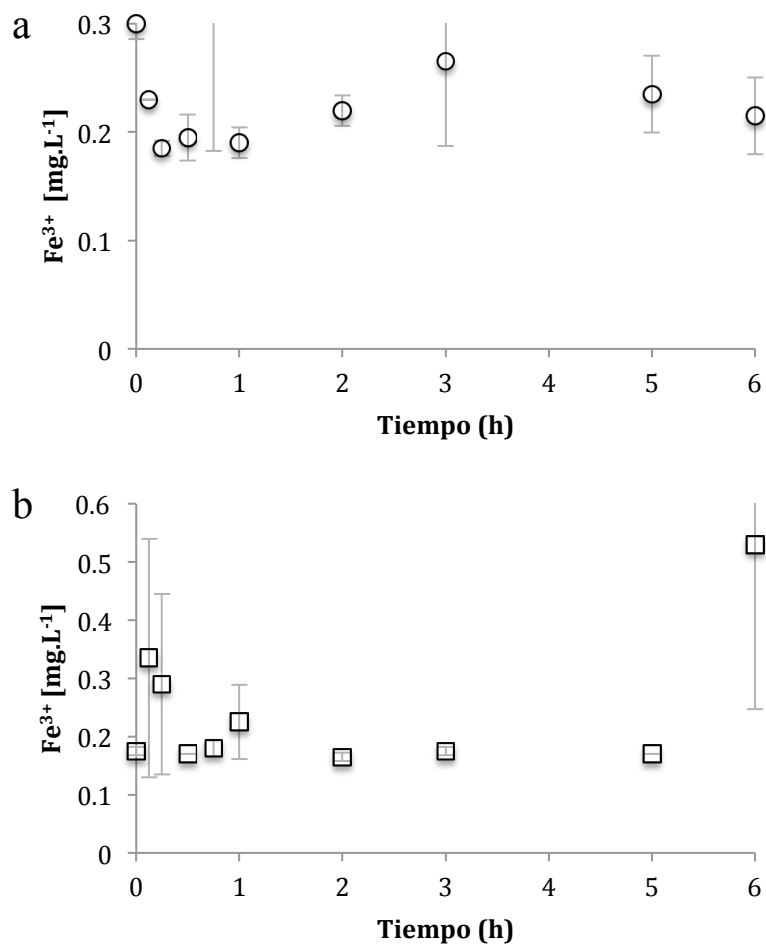




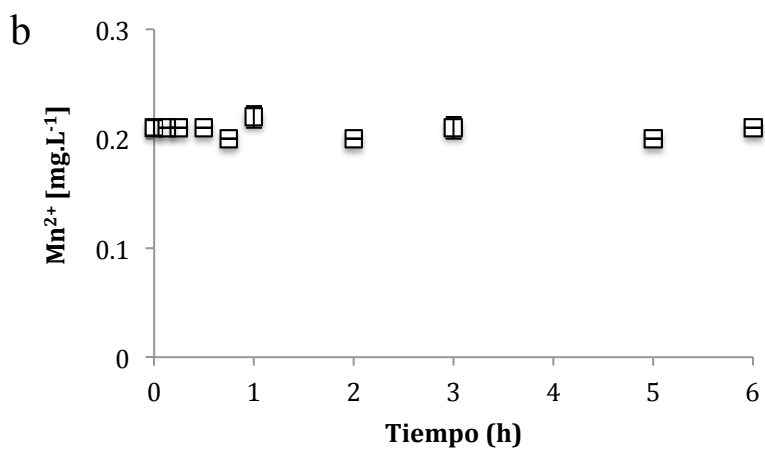
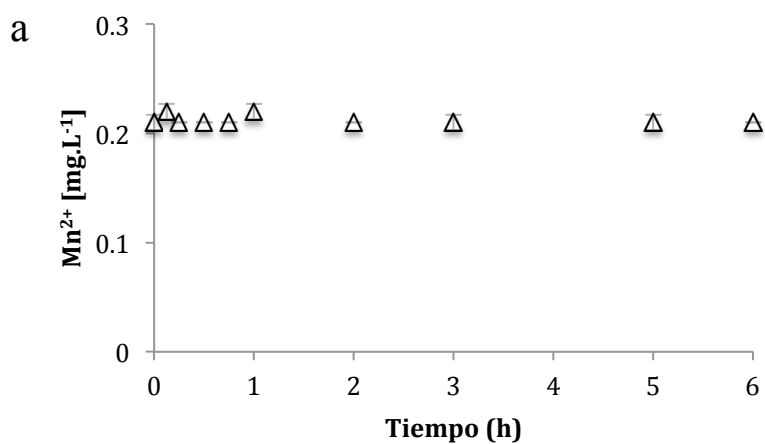
E. Modelo de difusión de plata de *Korsmeyer- Peppas* por los materiales ZAgnpT (a) y ZAgnpP (b) en agua de pozo con respecto al tiempo frente al consorcio microbiano.



F. Remoción de hierro por ZAgiónica (a) y ZAgnpP (a) en agua de pozo con respecto al tiempo frente al consorcio microbiano.

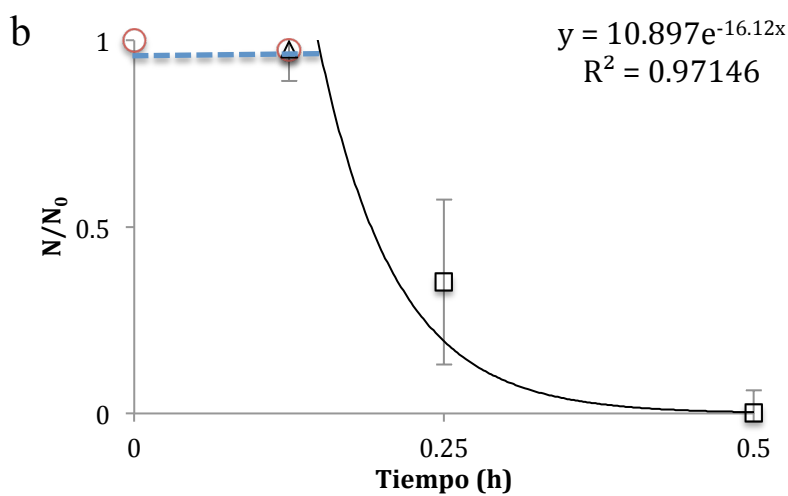
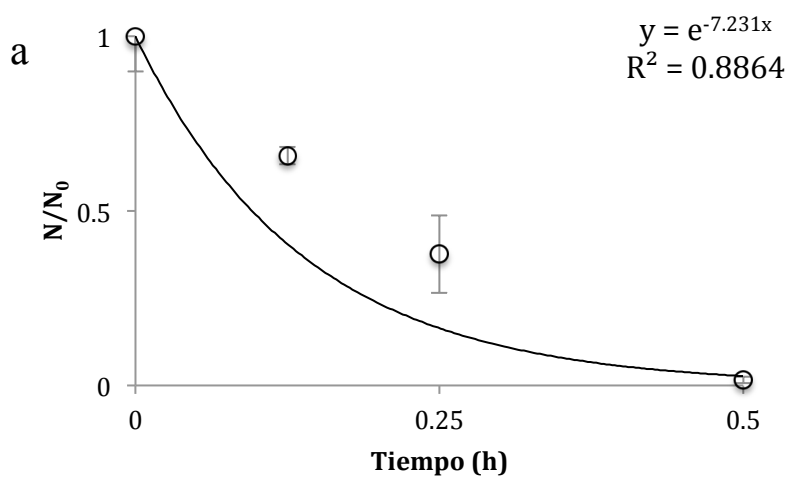


**G.** Remoción de manganeso por ZAgnpT (a) y ZAgnpP (b) en agua de pozo con respecto al tiempo frente al consorcio microbiano.



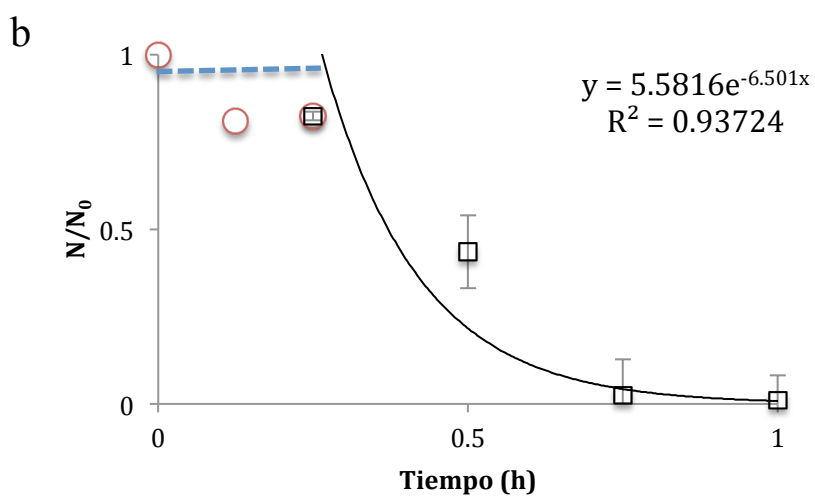
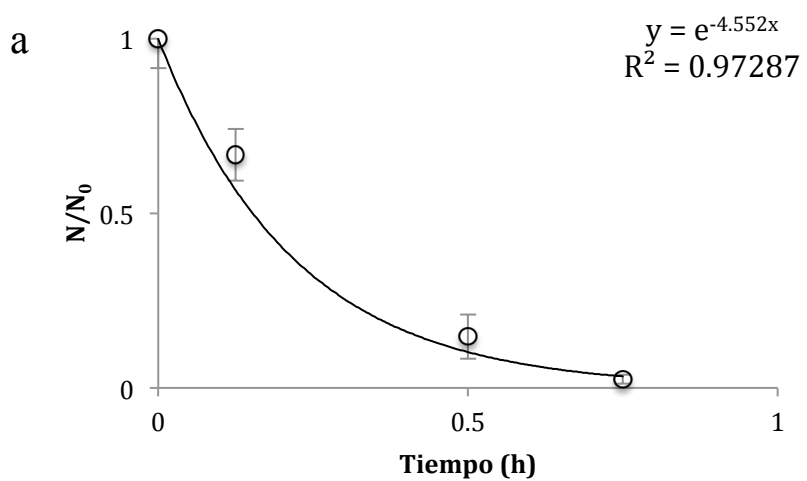
**Anexo 7.** Cinéticas de desinfección del consorcio microbiano y cinéticas de desorción, remoción y modelos de difusión de  $\text{Ag}^+$  de los materiales zeolíticos ZAgiónica (a) y ZAgnpT (b) en agua de pozo con Fe y Mn añadido.

**A.** Cinética de desinfección de *E. coli*- ZAgiónica (a) y ZAgnpP (b) en el consorcio en agua de pozo en presencia de  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$ .

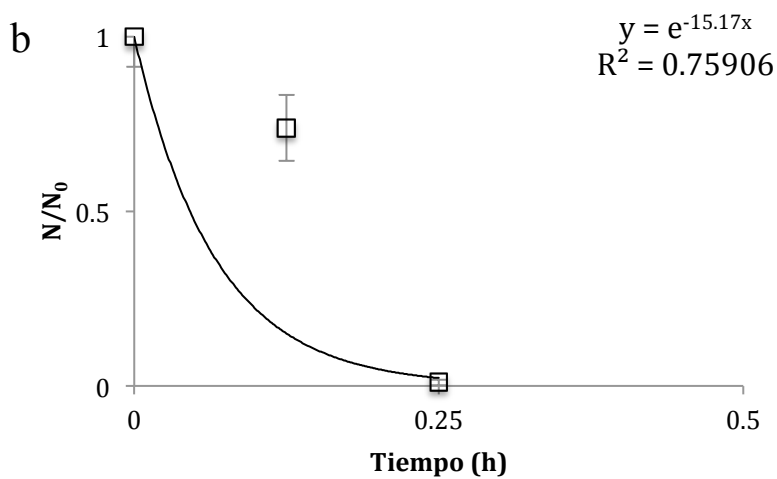
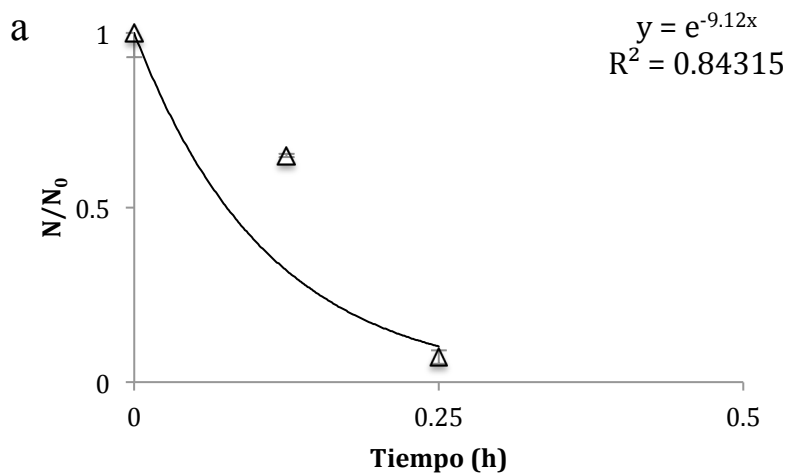


**B.** Cinética de desinfección de *E. faecalis*- ZAgiónica(a) y ZAgnpP (b) en el consorcio en agua de pozo en presencia de  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$ .

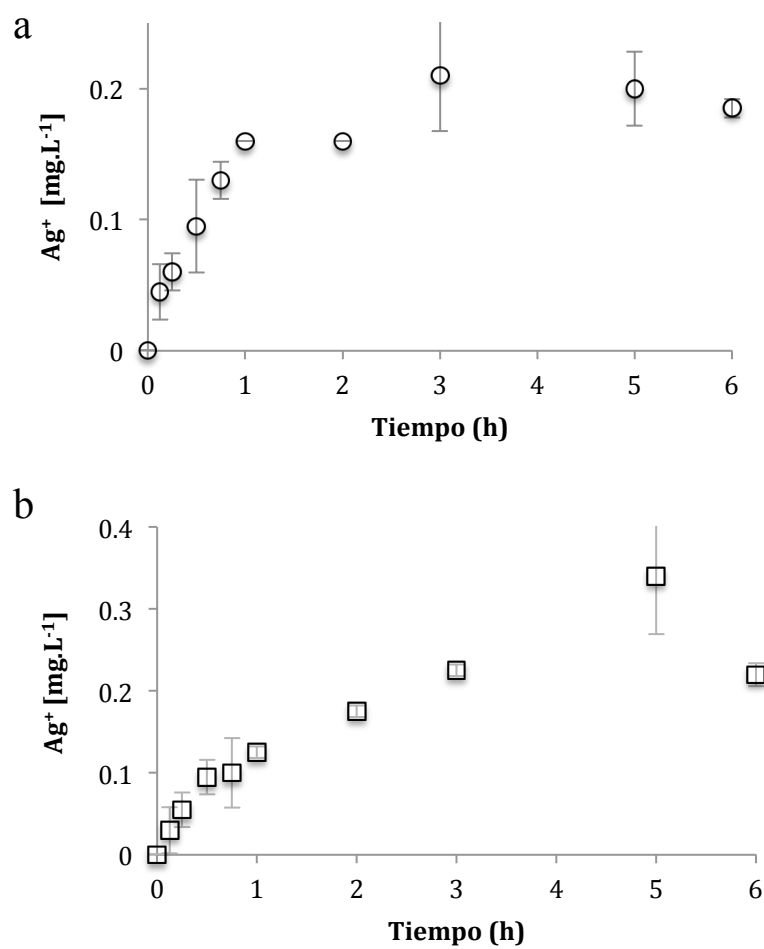
○ y ----  $t_{lat}$  (fase de lag). ◻ Inicio cinética desinfección.



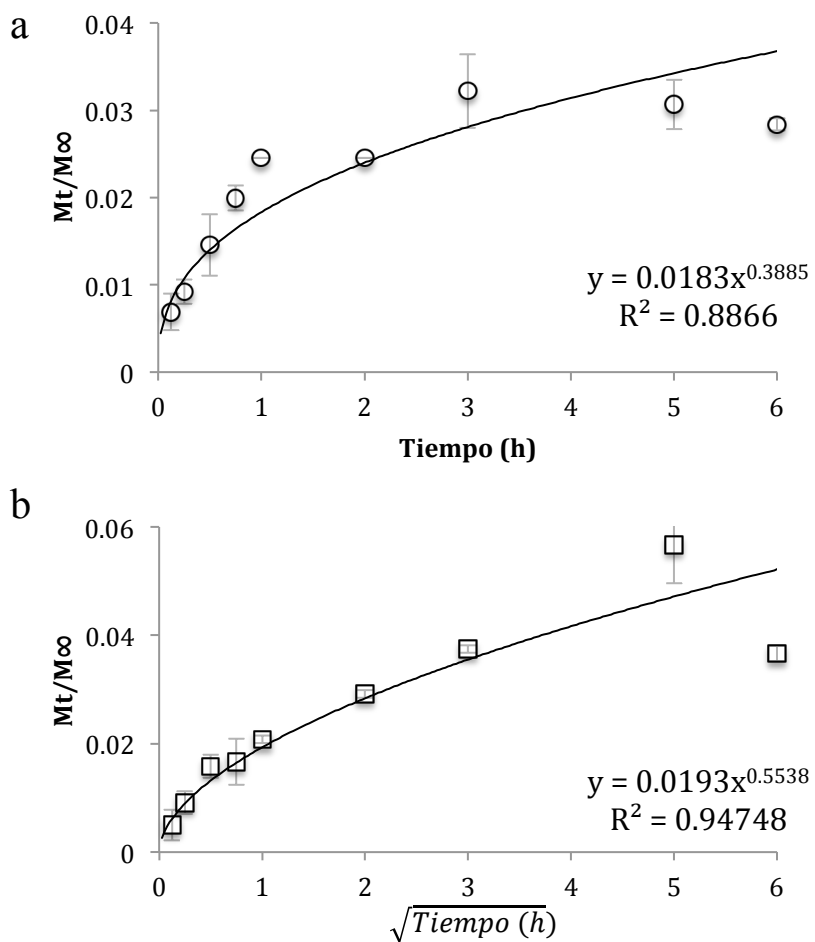
C. Cinética de desinfección de *C. albicans*- ZAgnpT (a) y ZAgnpP (b) en el consorcio en agua de pozo en presencia de  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Mn}^{2+}$ .



**D.** Desorción de plata por el material ZAgiónica (a) y ZAgnpP (b) en agua de pozo con  $\text{Mn}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$  con respecto al tiempo frente al consorcio microbiano.

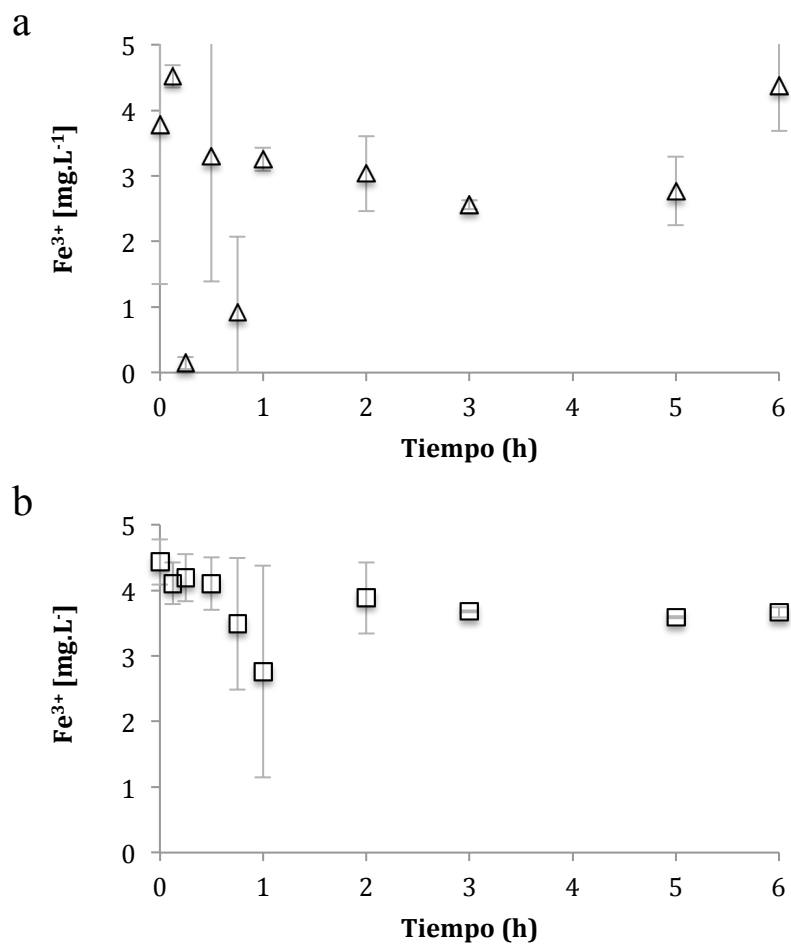


E. Modelo de difusión de plata de *Korsmeyer- Peppas* por el material ZAgiónica e Higuchi para ZAgnpP en agua de pozo con  $Mn^{2+}$  y  $Fe^{3+}$  con respecto al tiempo frente al consorcio microbiano.

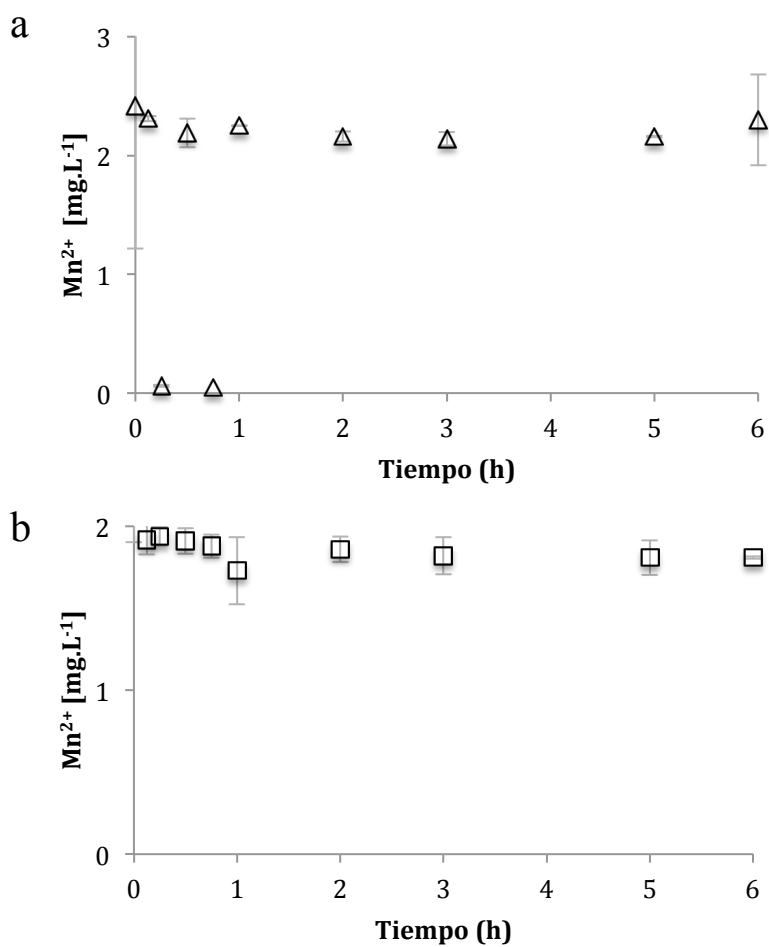




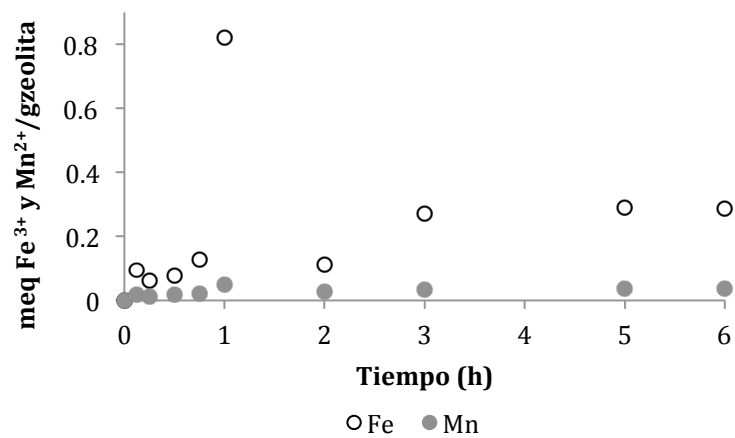
F. Remoción de hierro por ZAgnpT(a) y ZAgnpP (b) en agua de pozo con  $\text{Mn}^{2+}$  y  $\text{Fe}^3$  con respecto al tiempo frente al consorcio microbiano.



G. Remoción de manganeso por ZAgnpT (a) y ZAgnpP (b) en agua de pozo con  $\text{Mn}^{2+}$  y  $\text{Fe}^3$  con respecto al tiempo frente al consorcio microbiano.



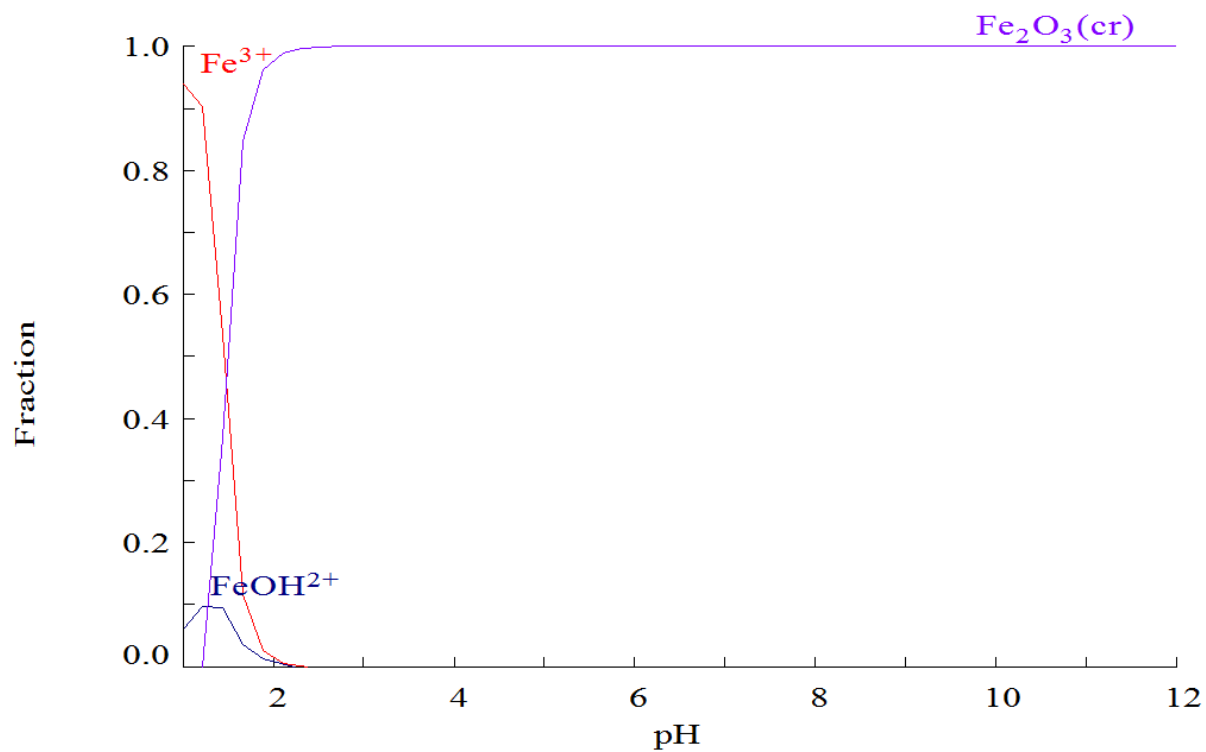
H. Sorción de Hierro y Manganese por el material zeolítico ZAgnpP en agua de pozo con  $\text{Mn}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$  con respecto al tiempo frente al consorcio microbiano.



## Anexo 8. Diagramas de especiación de Hierro y Manganeso.

### A. Diagrama de especiación de $\text{Fe}^{3+}$ . Medusa.

$$[\text{Fe}^{3+}]_{\text{TOT}} = 0.14 \text{ mM}$$



**B. Diagrama de especiación de  $\text{Mn}^{2+}$ . Medusa.**

$$[\text{Mn}^{2+}]_{\text{TOT}} = 91.00 \mu\text{M}$$

